Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

Die Glutamat-Dehydrogenase NAD(P) (GLDH) und ihr Verhältnis zur Aspartat-Transaminase (GOT) und Alanin-Transaminase (GPT) im Serum klinisch gesunder Hunde

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans Peter Köllmer
Tierarzt aus Königsberg/Ostpr.

Berlin 1968
Journal-Nr. 616

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere an
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

Die Glutamat-Dehydrogenase NAD(P) (GLDH) und ihr Verhältnis zur Aspartat-Transaminase (GOT) und Alanin-Transaminase (GPT) im Serum klinisch gesunder Hunde

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin

an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans Peter Köllmer

Tierarzt aus Königsberg/Ostpr.

Berlin 1968
Journal-Nr. 616

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. G. Bergmann
Referent: Prof. Dr. E. Lettow
Korreferent: Prof. Dr. H. J. Heidrich

Tag der mündlichen Prüfung: 13. II. 1968

Die Glutamat-Dehydrogenase NAD(P)(GLDH) und ihr Verhältnis zur Aspartat-Transaminase (GOT) und Alanin-Transaminase (GPT) im Serum klinisch gesunder Hunde

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung

II. Enzymologie der GLDH, GOT und GPT

1. Entdeckung der GLDH und Nomenklatur der drei Fermente
2. Biochemische Eigenschaften und physiologische Bedeutung der GLDH
3. Lokalisation der untersuchten Enzyme
   a. Lokalisation in Organen
   b. Lokalisation innerhalb der Zellen
   c. Vorkommen in Körperflüssigkeiten
4. Isoenzyme

III. Klinische Bedeutung der GLDH-Aktivitätsbestimmung im Serum und des $\frac{GOT + GPT}{GLDH}$ -Quotienten

IV. Bestimmungsmethoden und Enzymeinheiten

V. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methode
2. Voruntersuchungen
   a. Variation der Wellenlänge der Meßstrahlen des Photometers "Eppendorf"
   b. Bestimmung des Methodischen Fehlers
3. Ergebnisse der Hauptuntersuchungen
   a. GLDH-Aktivitäten im Serum klinisch gesund erscheinender Hunde unter Berücksichtigung des Alters und des Geschlechts

b. Das Verhältnis der Transaminasenaktivitäten zur GLDH-Aktivität ($\frac{GOT + GPT}{GLDH}$ - Quotient)

VI. Diskussion

VII. Zusammenfassung

VIII. Literaturverzeichnis

I. EINLEITUNG

Die Bestimmung der Glutamat-Dehydrogenase im Blut findet in der Humanmedizin neben der Beurteilung der GOT- und GPT-Serumaktivitäten zunehmendes Interesse in bezug auf eine Erweiterung der klinischen Möglichkeiten bei der Diagnose und Verlaufsbeobachtung von Lebererkrankungen.

Im veterinärmedizinischen Schrifttum liegen zahlreiche Angaben über die Bestimmung der beiden Transaminasen bei unseren Haustieren vor, es fehlen aber Untersuchungen über das Vorkommen und das Verhalten der Glutamat-Dehydrogenase.

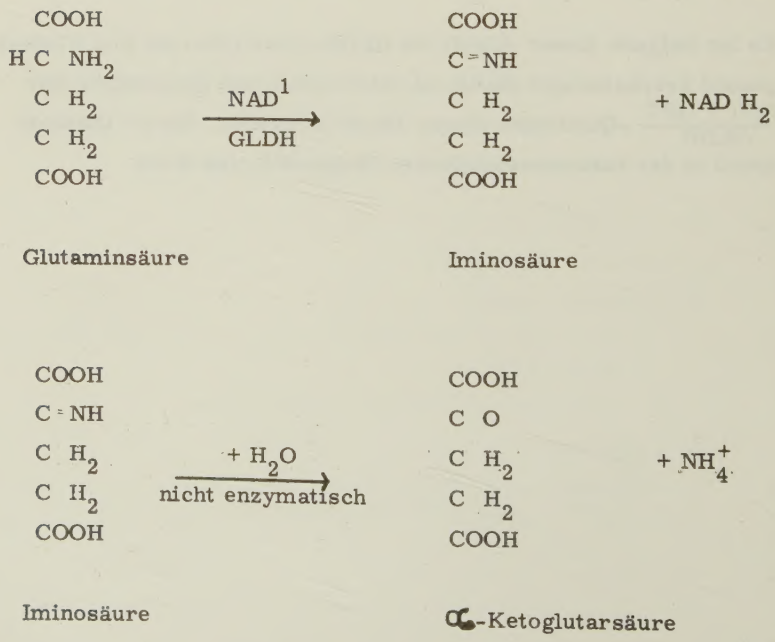
Es ist Aufgabe dieser Arbeit die GLDH-Aktivitäten im Blut klinisch gesund erscheinender Hunde zu untersuchen und gleichzeitig den $\frac{GOT + GPT}{GLDH}$-Quotienten dieser Hunde zu prüfen. Dieser Quotient spielt in der humanmedizinischen Diagnostik eine Rolle.

II. ENZYMOLOGIE DER GLDH, GOT UND GPT

1. ENTDECKUNG DER GLDH UND NOMENKLATUR DER DREI FERMENTE

THUNBERG wies 1920 im Froschmuskel ein Enzym nach, das, in Gegenwart von Glutaminsäure, eine Reduktion von Methylenblau zur Folge hatte. Von EULER und Mitarbeiter, 1939 (13), nahmen an, daß durch enzymatisch gesteuerte Wasserstoffanlagerung als Zwischenprodukt α-Iminoglutarsäure entsteht, die dann ohne enzymatischen Einfluß spontan mit Wasser reagiert und unter Freisetzen von Ammoniak α-Ketoglutarsäure bildet.

Schema I



1) Nicotinamid-adenindinucleotid

Die Enzymkommission der Internationalen Gesellschaft für Biochemie empfahl die Bezeichnung L-Glutamat: NAD, NADP, NAD(P), Oxydoreduktase (desaminierend) als systematischen Namen für das dabei wirksame Enzym.

Jeweils der erste Teil des systematischen Enzymnamens soll nach Regel 8 der Allgemeinen Regeln der Empfehlung den Namen des Substrates, der zweite Teil die Natur der katalysierten Reaktion, endend auf -ase, bezeichnen. Liegt das Substrat normalerweise als Anion vor, wird der Name des Salzes mit der Endung -at verwendet.

Als 15. Regel des Speziellen Teils der Klasseneinteilung wird die Bezeichnung Oxydoreduktase für die Fermente vorgeschlagen, welche oxydierende oder reduzierende Vorgänge katalysieren.

Das Coenzym soll dabei als Acceptor im Enzymnamen genannt werden. Ist das Enzym für beide Nicotinamid-Coenzyme spezifisch, wird dies durch die Bezeichnung NAD(P) angezeigt.

Der Zusatz "desaminierend" soll nach dem 13. Abschnitt des Allgemeinen Teils als Kennzeichnung einer zweiten Substratveränderung gebraucht werden.

Als Trivialname wurde Glutamat-Dehydrogenase NAD bzw. Glutamat-Dehydrogenase NADP oder Glutamat-Dehydrogenase NAD(P) vorgeschlagen (29, 93, 94).

Als Glutamat-Dehydrogenase, abgekürzt GLDH, wird das betreffende Enzym in vorliegender Arbeit aufgeführt.

Die Abkürzung GLDH wird entgegen dem Rat der Enzymkommission verwendet, die auf Anfangsbuchstaben reduzierte Abkürzungen für unzulässig erklärt (94).

Voraussetzung der Anwendung von Abkürzungen ist eine vorangehende korrekte Zuordnung zu Enzymen, die auf der Grundlage des Reports der Enzymkommission benannt und klassifiziert wurden.

Die Klassifikation ist auf einem System aufgebaut, das gleichzeitig die Grundlage für eine vierteilige Codenummer jedes Enzyms ist. Die Enzyme werden in sechs Hauptgruppen eingeteilt und ihre Zuordnung durch die erste Zahl ausgedrückt.

Die zweite Zahl bezeichnet den Typ der Atomgruppierung im Donator, welcher der Oxydation unterliegt.

Mit der dritten Zahl wird der Typ des Acceptors, mit der vierten die Ordnungsnummer des Enzyms in seiner Unterordnung bezeichnet. Die Glutamat-Dehydrogenase erhält nach diesen Richtlinien die Ordnungsnummer 1.4.1.2. bzw. 1.4.1.3. oder 1.4.1.4., je nachdem, ob als Acceptor NAD bzw. NAD(P) oder NADP fungiert (29, 93, 94).

Die Enzymkommission legte ferner fest, daß in Veröffentlichungen oder Zusammenfassungen von Arbeiten, deren hauptsächlich behandelter Gegenstand Enzyme sind, diese mit Codenummer, systematischem Namen und Hinweis auf erstmalige Erwähnung vorgestellt werden müssen.

In Veröffentlichungen, die nicht überwiegend einem Enzym gelten, sollen Enzyme bei ihrer ersten Nennung durch die jeweiligen Klassifikationsnummern identifiziert werden (94).

Diesen Forderungen wird in vorliegender Arbeit genüge getan. Die neben de Glutamat-Dehydrogenase im Titel aufgeführten Aspartat-Transaminase

(ebenso Aspartat-Aminotransferase) und Alanin-Transaminase (ebenso Alanin-Aminotransferase) entsprechen der im deutschsprachigen Schrifttum bisher nahezu ausschließlich angewandten Bezeichnung Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT).

Die Enzymkommission weist ausdrücklich darauf hin, daß diese Bezeichnungen (GOT und GPT) auch als Trivialnamen keine Verwendung finden sollen (94).

Die Klassifikation sowie der systematische Name wurde für die Aspartat-Transaminase mit 2.6.1.1. L-Aspartat: 2 Oxoglutarat-Aminotransferase und für die Alanin-Transaminase mit 2.6.1.2. L-Alanin: 2 Oxoglutarat-Aminotransferase festgelegt.

Die Abkürzungen GOT und GPT werden in vorliegender Arbeit beibehalten, obwohl sie der anzustrebenden einheitlichen Nomenklatur auf der Grundlage der Empfehlungen der Enzymkommission nicht entsprechen.

Die dem Apoferment zugehörigen Coenzyme werden in der eingesehenen Literatur unterschiedlich als Cozymase und Phospho-Cozymase oder Codehydrogenase I und Codehydrogenase II, als Coenzym I und Coenzym II sowohl wie als Diphosphopyridinnucleotid (DPN) und Tri-Phosphopyridinnucleotid (TPN) bezeichnet.

Die Enzymkommission der Internationalen Gesellschaft für Biochemie empfahl 1964 in Anlehnung an die bekannte chemische Konstitution die deskriptive Bezeichnung Nicotinamid-adenindinucleotid, abgekürzt NAD und Nicotinamid-adenindinucleotidphosphat, abgekürzt NADP (94).

Die gleichen Namen und Abkürzungen werden in vorliegender Arbeit verwendet.

2. BIOCHEMISCHE EIGENSCHAFTEN UND PHYSIOLOGISCHE BEDEUTUNG DER GLDH

Im folgenden wird bezüglich der Biochemie und Physiologie der GLDH nur dargestellt, was im Zusammenhang mit den vorliegenden Untersuchungen von Interesse ist. Eine eingehende biochemische Charakteristik der Glutamat-Dehydrogenase mit ausführlichem Literaturnachweis findet sich bei BÄSSLER (3).

Die von v. EULER et al. (13) angenommene Bildung von α-Iminoglutarsäure als Zwischenstufe der GLDH-katalysierten Reaktion wurde durch spätere Untersuchungen anderer Autoren nicht bestätigt (20, 49). Von EULER und ADLER (13) berichteten 1938 über eine hohe Substratspezifität der tierischen Glutamat-Dehydrogenase in sterischer wie in konstitutioneller Hinsicht. Nach Beobachtungen jüngerer Zeit (4, 81) muß diese Auffassung als widerlegt gelten (Tabellen I u. II).

Die oben beschriebene oxydative Desaminierung ist infolge der vergleichsweise geringen Substratspezifität nicht nur für L-Glutamat möglich, sondern ebenso für L-Norvalin, L-Aminobuttersäure und andere, Letztere zeigen jedoch eine geringere Reaktionsgeschwindigkeit, wie aus der Tabelle II hervorgeht.

Tabelle I

n. BÄSSLER u. HAMMAR (4)

Substratspezifität der Glutamat-Dehydrogenase für α-Ketosäuren

Ketosäure	relative Reaktionsgeschwindigkeit
α-Ketoglutarsäure	100
α-Ketovaleriansäure	25
α-Ketobuttersäure	2, 3
α-Ketoisovaleriansäure	0, 5

Die Enzymaktivität wurde optisch gemessen. Als Ansatz diente $1,67 \times 10^{-2}$ m der jeweiligen Ketosäure, 0, 033 m Triaethanolaminpuffer, 5×10^{-4} m NADH, 0, 15 NH_4^+ sowie 10 µg kristallisiertes Enzym aus Rinderleber. Der pH-Wert wurde auf 7, 6 eingestellt.

Tabelle II

n. STRUCK u. Mitarb. (81)

Substratspezifität der Glutamat-Dehydrogenase für Aminosäuren

Aminosäure	relative Reaktionsgeschwindigkeit
L-Glutaminsäure	100
L-Norvalin	17
L-Aminobuttersäure	2, 3
L-Leucin	1, 7
L-Valin	1, 6
D, L-Norleucin	1, 6

Die Tabelle II wurde nur auszugsweise wiedergegeben. Die Enzymaktivität wurde optisch gemessen. Als Ansatz diente $1,67 \times 10^{-2}$ m der jeweiligen Aminosäure, 0,1 m Tris-Puffer 1×10^{-3} m NAD, 0,05 % Albumin und kristallisiertes Enzym aus Rinderleber. Der pH-Wert wurde für Glutamat auf pH 8, für die anderen Aminosäuren auf pH 9 eingestellt.

Als Wasserstoffacceptoren für das aus Rinderleber gewonnene Apoferment der GLDH sind gleichermaßen NAD, NADP sowie desaminiertes NAD wirksam. Die Reaktionsgeschwindigkeiten mit aequimolaren Konzentrationen von NAD, Desamino-NAD (Nicotinamid-Hypoxanthindinucleotid) und NADP verhalten sich nach OLSON und ANFINSEN (49) wie 100 : 60 : 35. Ähnlich verhält sich die Glutaminsäure-Dehydrogenase menschlicher Placenta, die sowohl durch NAD als auch durch NADP zum Holoferment komplettiert und reaktionsfähig gemacht werden kann. Die Enzymaktivität variiert dabei quantitativ gleichartig wie bei der Rinderleber-Dehydrogenase.

In Hefen und in Bakterien wurde Glutaminsäure-Dehydrogenase gefunden, für welche sowohl ein NAD-, als auch ein NADP-spezifischer Anteil des Ferments beschrieben wurde. So berichten HOLZER und SCHNEIDER (31) über das Vorkommen je zweier Glutamat-Dehydrogenasen in Bier- und Bäckerhefe, die jeweils eine strenge Coenzymspezifität aufweisen und nur mit NAD beziehungsweise mit NADP reagieren.

Mit unterschiedlichen Methoden wurden reine kristallisierte Präparate der Glutaminsäure-Dehydrogenase aus tierischer und menschlicher Leber von STRECKER (80) sowie von OLSON u. ANFINSEN (48) und WALLENFELS u. Mitarb. (84) dargestellt.

OLSON und ANFINSEN ermittelten das Molekulargewicht kristallisierter Rinderleber-GLDH durch Sedimentations- und Diffusionsmessungen mit etwa 10^6 (49).

Das pH-Optimum wurde, abhängig von der Richtung der umkehrbaren Reaktion, von der Tierart und vom Puffersystem, zwischen pH 6,5 und pH 8,6, im Durchschnitt bei pH 7,6 liegend gefunden (3).

Untersuchungen von HELLERMANN u. a. (25) ergaben je nach Tierart eine unterschiedliche Anzahl und Anordnung von Sulfhydrilgruppen im Apoferment. Die Blockierung gewisser SH-Gruppen führte zur Inaktivierung des Fermentes.

Quantitative Zinkbestimmung stützt die Annahme, daß je vier Enzymfragmente durch ein Zinkatom zu einer enzymatisch aktiven Einheit vereinigt werden (3). Dieses Zink in zentraler Stellung ist Ansatzpunkt bei der mehrfach beschriebenen Inhibition der GLDH durch Metallkomplexe bildende Reagentien wie Natriumsulfid, O-Phenanthrolin, Thioharnstoff und andere (3).

Eine andere Wirkungsweise zeigen Hemmstoffe der Glutamat-Dehydrogenasewirkung wie Thyroxin und verwandte Verbindungen sowie Steroidhormone wie Oestradiol, Progesteron, Diaethylstilboestrol und Corticosteroide, die über eine Spaltung des Fermentes wirksam sind (3).

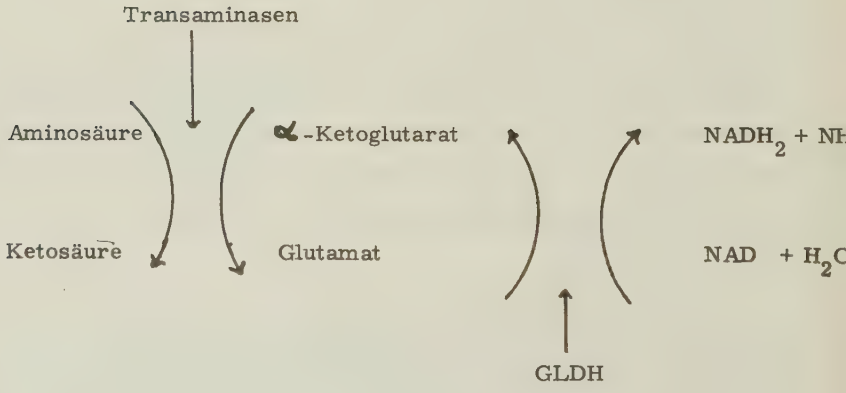
Die Hemmwirkung ist, abhängig von der Art des Inhibitors, in vielen Fällen kompetitiver Art und kann durch Zinksalze, ADP oder NAD aufgehoben werden.

Durch Verdünnung der Proteinkonzentration dissoziiert der Proteinanteil des Enzyms in drei Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von etwa 350 000.

Eine Dissoziation in vier Fragmente unter der Einwirkung von O-Phenanthrolin beschrieb FRIEDEN (20).

Trotz der aus den Tabellen I und II ersichtlichen, relativ gering ausgebildeten Substratspezifität der GLDH in bezug auf verschiedene Ketosäuren und Aminosäuren dominiert die eingangs aufgeführte reversible Biokatalyse der Umwandlung von Glutamat und α-Ketoglutarat, wie es das Schema II (n. RAPOPORT, 53) wiedergibt.

Schema II



Eine zentrale Stellung im Stoffwechsel kommt dieser Reaktion durch die Verbindung von Aminosäureumsatz und Zitronensäurezyklus zu (Schema II).

Das freiwerdende Ammoniak wird beim Säugetier in der Leber im Harnstoffzyklus nach Bindung an Ornithin und Citrulin über das

Arginin in Harnstoff umgewandelt, somit "entgiftet" und harnpflichtig gemacht.

Ein kleinerer Teil wird, vor allem in der Leber und im Gehirn, unter Einwirkung der Glutaminsynthease durch Anlagerung an Glutamat in Glutamin umgewandelt (47).

Glutamin ist eine der Muttersubstanzen des Harnammoniaks. In der Niere erfolgt die Umwandlung des Glutamins in α-Ketoglutarsäure, wobei Ammoniak freiwird (35).

Durch Versuche am Hund konnte gezeigt werden, daß bei der Nierenpassage der Säureamidstickstoff des Glutamins abnimmt und daß die quantitative Differenz mit der Menge des gebildeten Harnammoniaks übereinstimmt.

Die gute Reversibilität der GLDH-Reaktion ermöglicht durch Kopplung mit der Transaminierung die Fixierung von freiem Ammoniak und die Bildung von Aminosäuren (s. Schema III).

Die jeweils mögliche Bindung oder das Freiwerden von Ammoniak ist für den Säure-Basenhaushalt des Organismus bedeutungsvoll (53).

3. LOKALISATION DER UNTERSUCHTEN ENZYME

a. Lokalisation in Organen

Die GLDH findet sich in sehr unterschiedlichen Konzentrationen in allen tierischen Geweben. Besonders eingehend wurde der Enzymgehalt von Organen des Menschen erforscht.

Die enzymatischen Aktivitäten verschiedener menschlicher Organe wurden von v. EULER und ADLER 1938 (13) untersucht und sind aus folgender Tabelle ersichtlich. (Als Meßmethode wurde der Optische Test verwandt. Die Gewebe wurden mit Quarzsand zerrieben und mit 0,1 m Na_2HPO_4 extrahiert.)

Tabelle III

Gewebe	relative Aktivität der Glutamat-Dehydrogenase
Leber	100
Niere	41
Darmwand	7
Skelettmuskel	6
Gehirn	6
Herzmuskel	5
Milz	5

Die in Tabelle III aufgeführten Werte müssen nach Ergebnissen jüngerer Untersuchungen, vor allem in bezug auf die Leber/Niere-Aktivitätsdifferenz korrigiert werden.

Beispielsweise fanden SCHMIDT und HERFARTH (68) in dreißig Gewebsproben der Leber eine durchschnittliche Aktivität von 38610 mU/g Frischgewebe oder 398 mU je mg Extraktprotein, in der Niere hingegen nur 6675 mU/g Frischgewebe bzw. 120 mU/mg Extraktprotein.

Untersuchungen der Enzymaktivitäten tierischer Organe ergaben in einigen Fällen ähnliche Relationen. So fanden SCHMIDT und WILDHIRT (60) eine weitgehende Übereinstimmung der GLDH-Aktivitäten in der Menschen- und in der Rattenleber: Je Gramm menschlicher Leber wurden Aktivitäten von 1424 $\pm$ 477 U bei sieben Probanden und 1411 $\pm$ 647 U/Gramm Rattenleber bei 20 Tieren gefunden. Bezugspunkt der gemessenen Aktivitäten war bei diesen Untersuchungen der Gehalt des Leberhomogenats an Desoxyribonucleinsäure, die als Kernbestandteil quantitativ adaequater Ausdruck der Zellzahl der Probe ist. SCHMIDT E. und F. W. SCHMIDT (69) verglichen das Enzymmuster normaler Leber von Menschen mit dem der Leber verschiedener Versuchstiere. Die von ihnen gefundenen GLDH-, GOT- und GPT-Aktivitäten sind in der Tabelle IV aufgeführt.

Tabelle IV

	Mensch			Meerschw.			Ratte			Maus		
	Gesamt-	in %		Gesamt-	in %		Gesamt-	in %		Gesamt-	in %	
ym	Aktivität	C.R.	M.R.	Aktivität	C.R.	M.R.	Aktivität	C.R.	M.R.	Aktivität	C.R.	M.R.
DH	92	0	100	130	0	100	14	0	100	6	0	100
	95	61	39	57	39	61	94	41	59	93	44	56
	58	89	11	2	100	0	24	100	0	27	100	0

C.R. = cytoplasmat. Raum M.R. = mitochondrialer Raum

Aus dieser Aufstellung sind die sehr unterschiedlichen Lebergesamtaktivitäten der Fermente, in Abhängigkeit von der jeweils untersuchten Tierart, ersichtlich. Es besteht keine Übereinstimmung zwischen der quantitativen Enzymrelation der verschiedenen Species.

WROBLEWSKI u. Mitarb. (91) untersuchten verschiedene Organe des Menschen und des Hundes auf ihren GOT-Gehalt. Die höchsten GOT-Werte wurden jeweils im Herzmuskel festgestellt. In der Leber und in der Skelettmuskulatur waren die Aktivitäten deutlich geringer.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch CORNELIUS u. a. (10), die beim Hund wie bei anderen, landwirtschaftlich genutzten, Tierarten den GOT-Gehalt des Herzmuskels höher als den anderer Organe fanden.

Im Gegensatz dazu maßen NAGODE et al. (46) die höchste enzymatische Aktivität der GOT in der Skelettmuskulatur und der Leber des Hundes.

Beide Transaminasen lassen demnach eine Organspezifität nicht erkennen. Unter Berücksichtigung der GLDH-Aktivität der Organe, wie sie in Tabelle III dargestellt wird, bewerten E. und F. W. SCHMIDT (67), FILIPPA (15, 16) sowie WILDHIRT (87) die Glutamat-Dehydrogenase als relativ leberspezifisch.

Die aus den Tabellen ersichtlichen Fermentaktivitäten der drei Enzyme in der Leber sind in klinischer Hinsicht als Indikatoren des Organzustandes bedeutungsvoll geworden.

Untersuchungen über die Lokalisation der Glutamatdehydrogenase innerhalb der Leberläppchen erbrachten widersprüchliche Ergebnisse. So fanden PETTE und BRANDAU (51) mittels neuentwickeltem Gelschichtverfahren

für die im perizentralen Bereich der Läppchen befindlichen Parenchymzellen von Rattenlebern deutlich höhere Aktivitäten, als in den periphe r lokalisierten Zellen.

Ihre Beobachtungen stimmen mit der Auffassung überein, daß eine funktionelle Unterteilung der Lobuli in ein periportales und ein perizentrales Feld sinnvoll ist.

Der jeweilige Enzymbesatz beider Felder soll je nach Stoffwechselleistung differieren (24).

Diese Beobachtungen können vielleicht auch in klinischer Hinsicht Bedeutung erlangen, weil die Blutversorgung der Leberläppchen in portozentraler Richtung pathogenetisch als bedeutsam angesehen wird. Dem peripheren und dem zentralen Schädigungstyp konnte durch histoenzymatische Untersuchungen jeweils ein periportales bzw. ein perizentrales Schädigungsfeld zugeordnet werden (24).

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von PETTE und BRANDAU stehen die Untersuchungsergebnisse MATTENHEIMERS (43). Er präparierte aus den Leberläppchen schmale Streifen im Verlauf von der Zentralvene zum interlobulären Pfortadertrakt, isolierte Zellgruppen von im Streifenbereich bekannter Lokalisation und analysierte deren Enzymaktivitäten. Während der Autor in der Leber des Menschen eine ziemlich gleichmäßige Verteilung der Glutamat-Dehydrogenase innerhalb der Leberläppchen ermittelte, fand er in den Leberläppchen des Hundes eine erstaunlich ungleichmäßige Verteilung des Ferments und sah sich außerstande, diesen Befund zu erklären.

b. Lokalisation innerhalb der Zelle

CHRISTIE und JUDAH (8) fanden bei ihren Untersuchungen an Rattenlebern die Glutamat-Dehydrogenase ausschließlich in den Mitochondrien lokalisiert. Etwa gleichzeitig bestätigten HOGEBOOM und SCHNEIDER (30) diesen Befund für die Mäuseleber.

Die Ergebnisse dieser Autoren harmonieren mit den in Tabelle IV aufgeführten, späteren Untersuchungen von SCHMIDT und SCHMIDT an Lebern des Menschen, der Ratte und Maus sowie des Meerschweinchens.

SIEBERT (77) konnte durch Aktivitätsmessungen von Zellfraktionen von Schweinenieren- und Rattenleberzellen die Abwesenheit der GLDH in den Zellkernen nachweisen. Der GLDH-Gehalt von Zellkernpräparaten wird als Kriterium für Verunreinigungen mit mitochondrialen Bestandteilen benutzt (3).

Die ausschließlich intramitochondriale Lokalisation der GLDH ist nicht umstritten.

Für die GPT wird von zahlreichen Autoren eine Lokalisation ausschließlich im Cytoplasma der Zellen angenommen.

Bei Betrachtung der Ergebnisse von SCHMIDT und SCHMIDT (Tabelle IV) fällt jedoch auf, daß in der Leber des Menschen eine mitochondriale Komponente der GPT-Fraktion gefunden wurde, die 11 % der Lebergesamtaktivität dieses Ferments betrifft. Dieser mitochondriale Anteil wird bei Meerschweinchen, Ratte und Maus vermißt.

SCHMIDT diskutiert die unterschiedlichen Auffassungen nicht und spricht in Übereinstimmung mit dem vorherrschenden Tenor nur von

der ausschließlich cytoplasmatisch lokalisierten GPT (74). Möglicherweise hält er den mitochondrialen Anteil für praktisch-klinische Belange für unerheblich.

Im Gegensatz zu den beiden "unilokulären" Enzymen GLDH und GPT findet sich etwa 40 % der GOT an intrazelluläre Strukturen gebunden, der restliche Anteil im Cytoplasma gelöst.

Die bilokuläre GOT zeigt in Abhängigkeit von der jeweiligen intrazellulären Lokalisation verschiedene Eigenschaften, die eine Differenzierung in Isoenzyme möglich machen (s. II. 4.).

Von den intrazellulären Strukturen interessieren im Rahmen vorliegender Arbeit vornehmlich die Mitochondrien, die der Sitz der GLDH sind.

Die Mitochondrien der Leberzelle können, wie elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, nach ihrer Morphologie in solche des eingangs charakterisierten periportalen und des perizentralen Feldes geschieden werden. So zeigt das periportale Feld einen hohen Mitochondrienbesatz, dessen einzelne Mitochondrien zwar relativ wenig Matrix, dafür aber eine markante Strukturierung durch Leisten aufweisen. Der Enzymbesatz ist durch die Konzentration von Atmungsfermenten charakterisiert, die sehr fest an die Eiweiß-Lipoidstruktur der Christae gebunden sind.

Im Gegensatz dazu sind Enzyme mit Syntheseleistung wie die GLDH in der Matrix lokalisiert. Die Mitochondrien des perizentralen Feldes sind ihrerseits durch die dominierende Matrix und die nahezu fehlenden Leisten morphologisch kenntlich.

Für eine Differentialdiagnose mittels der Serumfermente hat sich als bedeutsam herausgestellt, daß die in der Matrix lokalisierte GLDH bei

Schädigung der Leberzellmitochondrien frei wird, während die Enzyme der Christae, wie beispielsweise die Succinatdehydrogenase, Cytochrome und Cytochromoxidase fest und unlöslich verankert sind. Die Ausschwemmung von GLDH aus den Mitochondrien ist wegen der oben geschilderten morphologischen Organisation dieser Zellorganellen erst nach Schädigung zumindest der Christaschranke und der äußeren Mitochondrienhülle möglich (24, 61). Das Vorhandensein weiterer morphologischer Sperren für einen Enzymaustritt wird diskutiert.

Das Verhältnis der verschiedenen Gewebsarten der Organe kann sich physiologischerweise zwecks Kompensation einer Einwirkung oder pathologisch als Ausdruck einer Schädigung ändern. Diese Variation histologisch-anatomischer Verhältnisse bringt eine ebensolche Änderung des Enzymfächers mit sich (24).

c. Vorkommen in Körperflüssigkeiten

Neben den vorwiegend von der Leber sezernierten, plasmaspezifischen Enzymen, deren Wirkungsort das Blut ist, wie beispielsweise das Prothrombin, finden sich im Blutplasma auch plasmaunspezifische Enzyme, zu denen die GLDH, die GOT und die GPT gehören.

Diese plasmaunspezifischen Enzyme können, soweit sie ubiquitär verbreitete Hauptkettenenzyme der Zellen sind, aus enzymreichen Organen mit hohem morphologischen Eigenumsatz (Zellmauserung) freigesetzt werden.

Wegen der verhältnismäßig raschen Elimination der Enzyme im Blut kommen als Enzymquellen vor allem Zellen von kurzer Lebensdauer infrage. Für die menschliche Leber wurde eine Eiweiß-Halbwertszeit

von 10 Tagen (bei 80 Tagen für das gesamte menschliche Körpereiweiß) ermittelt (60). Das könnte die erhebliche Rolle dieses Organs als Quelle plasmaunspezifischer Enzyme erklären.

Das Austreten dieser plasmaunspezifischen Enzyme aus den Zellen wird durch die Minderung der Permeabilität der Zellmembranen im biologischen Rhythmus der physiologischen Zellmauserung sowie durch das große Konzentrationsgefälle an Enzymaktivitäten zwischen intra- und extrazellulärem Raum erklärt.

Ein Einfluß auf das Enzymverteilungsmuster des normalen Serums durch zelluläre Blutbestandteile steht außer Frage (27).

In Erythrozyten wurden geringe Aktivitäten sowohl der GOT als auch der GPT festgestellt (37), eine Aktivität der Glutamat-Dehydrogenase wird hingegen vermißt (62).

Thrombozyten haben eine biologische Halbwertszeit von vier Tagen und bergen sämtliche Hauptkettenenzyme in hohen Konzentrationen.

Granulozyten kommen ebenfalls als Quellen für plasmaunspezifische Enzyme wie die GLDH und beide Transaminasen infrage (37).

Die unterschiedlichen Aktivitäten verschiedener Enzyme im Blut wie in anderen Körperflüssigkeiten zeigen einen Zusammenhang mit der Kinetik und Elimination der Enzyme.

So befinden sich Enzyme, wie alle Eiweißstoffe, in permanentem Umsatz, der als dynamisches Gleichgewicht treffend gekennzeichnet wird. Normalerweise halten sich auf- und abbauende Prozesse die Waage. Harmonische Synthese, Inaktivierung und Abbau oder Ausscheidung der plasmaunspezifischen Enzyme stellen den Enzymspiegel in den

Zellen und Gewebssäften auf einen bestimmten Normbereich ein. Unterschiede oder Schwankungen des Normalbereichs zeigen häufig Zusammenhänge mit dem Lebensalter, dem Geschlecht und dem physiologischen Zustand des Individuums, wie aus zahlreichen Untersuchungen hervorgeht (2, 27).

So fanden GREENBAUM und GREENWOOD (23) in Brustdrüsen laktierender Ratten eine ca. sechsmal höhere Aktivität der GLDH, als bei inaktiven Drüsen und bei Drüsen bis zum 15. Tag der Schwangerschaft.

Die Kinetik im Blut vorkommender Enzyme wurde eingehend von AMELUNG u. Mitarb. (1) untersucht. Sie fanden bei Kaninchen und Meerschweinchen, denen intravenös Fermente injiziert worden waren, keinen Anstieg der Aktivitäten in Galle und Urin für die Transaminasen.

Auch PIETSCHMANN (52) fand beim Menschen, selbst bei erheblicher Nierenschädigung mit Proteinurie, keine erhöhte Nierendurchlässigkeit. Eine Beziehung zwischen Serumfermentspiegel und Aktivitäten des Harns konnte er nicht feststellen.

JEDLOWSKI u. a. (32) untersuchten den Transaminasenspiegel der Gallenflüssigkeit mittels Duodenalsondierung und fand ihn stets geringer als den des Blutes. Eine Abhängigkeit der Transaminasenaktivität der Gallenflüssigkeit von den entsprechenden Serumwerten war selbst bei hohen Serumaktivitäten während des Ablaufs einer Hepatitis nicht nachzuweisen. Eine Fermentinhibition durch Galleeinwirkung konnte ausgeschlossen werden. Die Verfasser diskutieren eine lokal begrenzte Schädigung der Leberzelle-Serum-Membran bei Hepatitis, die die Leber-Galle-Grenzmembran nicht berührt.

Auch DUNN u. Mitarb. (12) konnten bei Untersuchungen an Hunden, denen intravenös GOT injiziert worden war, eine Abhängigkeit der GOT-Aktivität der Gallenflüssigkeit von dem Enzymspiegel des Blutes ausschließen.

Ein Anstieg der GOT-Aktivität im Urin wurde ebenfalls nicht beobachtet.

Für den abfallenden Serumspiegel des Blutes post injectionem wurde von AMELUNG (1) ein zweiphasiger, exponentialer Verlauf gefunden. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (82, 18).

Der ersten kinetischen Phase entspricht die Verdünnung der Fermentproteine im extrazellulären Raum bis zur Einstellung des Diffusionsgleichgewichtes. Die zweite, langsamere Phase ist Ausdruck von Eliminierung, Inaktivierung oder Abbau und stellt die eigentliche, absolute Aktivitätsabnahme dar.

Gestützt wird somit die Annahme eines ähnlichen Mechanismus, wie er für den Abbau und die Ausscheidung anderer Eiweißstoffe aus dem Blutplasma festgestellt wurde. Die Halbwertszeiten der Serumproteine liegen allerdings mit 26 Tagen für Albumine, 8 - 10 Tagen für α-Globuline und 20 - 30 Tagen für γ-Globuline erheblich höher, als die der Plasmaenzyme (57). Ursachen für diese Unterschiede sind der Literatur nicht zu entnehmen.

Die Untersuchungen von AMELUNG ergaben mindestens doppelt so große Halbwertszeiten für die zweite Phase, verglichen mit der Ausbreitungs- und Verdünnungsphase intravenös applizierter Enzyme. Während die erste Phase der GOT- und GPT-Aktivitätsminderung annähernd gleiche Geschwindigkeit aufwies, unterschied sich der Abfall beider Kurven deutlich im zweiten Teil: die GOT-Aktivität sank rascher ab.

WAKIM und FLEISCHER (18) untersuchten die Eliminationsgeschwindigkeit intravenös verabreichter Enzyme bei Ratten und Hunden und fanden für den semilogarithmischen Auftrag der Serumaktivität gegen die Zeit

bei der GOT II[+] ein gegenüber der GOT I[+] und der GPT deutlich verschiedenes Modell. Die Untersucher stellten für die GOT II eine wesentlich schnellere Elimination als für GOT I und GPT fest. Die Gründe für dieses unterschiedliche Verhalten sind nicht bekannt.

Überschlagsmäßige Berechnungen der Enzymelimination im Plasma ergaben beim Menschen Halbwertszeiten von 46 - 48 Stunden für die GOT, 63 - 88 Stunden für die GPT und ca. 65 Stunden für die GLDH (74).

Beim Hund werden von SCHMIDT und SCHMIDT (69) als Halbwertszeiten der 2. Phase für die GOT = 12 und für die GPT = 20 Stunden gefunden.

Mit der Größe der Tierspecies wurden ansteigende Enzymhalbwertszeiten gemessen. Die Relation der Halbwertszeiten erwies sich als annähernd konstant (67).

Als Ursachen für den Aktivitätsabfall im Blutplasma werden diskutiert (2, 27):

1. die zelluläre Enzymaufnahme
2. intra- und extravasale Enzyminaktivierung
3. Exkretion von Plasmaenzymen.

Die Ausschaltung der Leber, Milz, Nieren oder des RES verzögerten im Experiment nicht den Abfall der Enzymplasmaaktivitäten (27, 12). Zu anderen Ergebnissen kamen WAKIM und FLEISHER (83), die Zusammenhänge zwischen der Funktion des Reticulo-Endothelialen Systems und der Fermentinaktivierung untersuchten. Dazu bedienten sie sich des Zymosans, eines unlöslichen Polysaccharides, das eine Behinderung, vielleicht sogar eine Schädigung des RES während der der Injektion folgenden Stunden bewirkt. Nach einem oder mehreren Tagen wird hingegen eine ausgedehnte Proliferation und damit eine Aktivierung des RES beobachtet.

+) Isoenzyme der GOT (s. II. 4.)

Bei Versuchshunden wurde nach Injektion von Zymosan eine deutliche Verzögerung der Clearance injizierter Transaminasen beobachtet, die zwei Stunden nach der Gabe von Zymosan begann und mehrere Stunden anhielt. Bei einem Abstand von 24 - 48 Stunden zwischen beiden Injektionen wurde eine beschleunigte Elimination im Vergleich mit einer Kontrollgruppe beobachtet. Für den festgestellten Initialeffekt kann nach Auffassung der Autoren eine Hinderung der Clearance sowie eine vermehrte Freisetzung von Enzymen angenommen werden.

E. SCHMIDT und F. W. SCHMIDT (74) vermuten, daß die ehemals zelleigenen Enzyme, im Gegensatz zu Albuminen und anderen Eiweißen, intravasal ihre Aktivität verlieren und damit dem spezifischen Nachweis entzogen sind.

Der Mechanismus des Enzymabbaus gilt als ungeklärt.

In menschlichen Seren wird normalerweise eine Aktivität der Glutamat-Dehydrogenase in ca. 25 % der Fälle vermißt, wie übereinstimmend mehrere Autoren berichten (66, 14, 15, 61, 74).

Als arithmetische Mittelwerte der Serum-GLDH wurden von LAUDAHN (14) 0,22 mU, von SCHMIDT (66) 0,29 mU und von FILIPPA (16) 0,63 mU als Normalwerte beim Menschen festgestellt.

Eine Altersabhängigkeit wurde nicht gefunden und eine Beziehung zum Geschlecht konnte statistisch nicht gesichert werden (14).

Zu unterschiedlicher Tageszeit sowie nach geringen und stärkeren körperlichen Belastungen entnommene Blutproben zeigten keine Differenzen der GLDH-Aktivitäten (66).

SCHMIDT, F. W. (73) untersuchte die Glutamat-Dehydrogenase im Blut bei 48 Versuchshunden. Er fand die meisten Werte bei etwa 1 mU/ml Serum. Die Spannweite extremer Werte ging nicht über 3 mU/ml Serum hinaus.

Als mittlere Serumwerte 109 klinisch gesunder Hunde fand WÜRZNER (97) für die GOT 0,58 ± 0,15 Bücher E/ml und für die GPT 0,37 ± 0,16 Bücher E/ml. Eine Alters- oder Geschlechtsabhängigkeit konnte nicht festgestellt werden.

Auch CRAWLEY und Mitarb. (11) konnten eine unterschiedliche Serumaktivität der beiden Transferasen für verschiedene Altersklassen des Hundes nicht statistisch sichern.

Dagegen fanden STEVENS und BERLINER (79) bei Hunden einen signifikanten Geschlechtsunterschied für die GPT. Die mittleren Serumaktivitäten dieses Ferments wurden bei Rüden höher als bei Hündinnen gefunden.

4. ISOENZYME

HESS (28) möchte den auf MARKERT und MOLLER zurückgehenden Ausdruck "Isoenzyme" für chemisch und physikalisch heterogene Enzyme gleichartiger Wirkung, die aus einem homogenen, definierten Zelltyp stammen, gebraucht wissen.

Als "Heteroenzyme" sollten nach WIELAND und PFLEIDERER (88) ebenso Enzyme mit verschiedenen chemischen und physikalischen Eigenschaften, die jedoch verschiedenen Ursprungs sind, bezeichnet werden. Die phylogenetische Differenzierung der Gewebe bedeutet nach SCHMIDT und SCHMIDT (63) enzymologisch die Ausbildung unterschiedlicher Enzymmuster. Organeigentümliche Leistungen machen einen quantitativ und qualitativ verschiedenartigen Enzymbesatz erforderlich.

Die qualitativen Unterschiede, die ihren Ausdruck nur selten im Auftreten gänzlich verschiedener Enzyme der Organe, sondern häufiger im Vorhandensein von Isoenzymen finden, sind in jüngster Zeit Gegenstand intensiver Untersuchungen gewesen (89).

SCHMIDT und HERFARTH (68) konnten mittels chromatographischer Auftrennung von Homogenaten menschlicher Leber Isoenzyme der GOT und der GLDH nachweisen. Reaktionskinetische Untersuchungen zeigten Unterschiede und machten eine Abgrenzung von GOT- und GLDH-Isoenzymen möglich.

Durch fraktionierte Extraktion wurden GOT-Isoenzyme des cytoplasmatischen Raumes der Zelle gewonnen, die relativ fest an DEAE-Zellulose haften und in der Elektrophorese anodisch wandern, während die entsprechende, ehedem in den Mitochondrien lokalisierte, GOT-Fraktion nicht adsorbiert wird und zur Kathode wandert (68, 19).

HELM (26) untersuchteGewebe verschiedener menschlicher Organe, die autoptisch von höchstens 12 Stunden alten Verstorbenen gewonnen wurden, mittels elektrophoretischer Trennung einzelner Fraktionen im Agar-Gel-Medium. Der Autor stellt Differenzen im GLDH-Enzymbesatz der verschiedenen Gewebe fest. Aus Lebergewebe konnte eine Höchstzahl von 6 Banden gegeneinander abgegrenzt werden. Der Besatz an einzelnen Fraktionen bei den verschiedenen Geweben differierte quantitativ. Die Fraktionen 1 - 5 waren sowohl im Herz- als auch im Leber-, Nieren- und Milzgewebe nachweisbar.

WILKINSON (89) diskutiert eine mögliche adaptative Enzymproduktion in bezug auf verschiedene GLDH-Formen, die als Entgegnung auf Umwelteinflüsse gewertet werden könne.

Das Vorkommen von GLDH-Isoenzymen hat für praktisch klinische Fragestellungen keine Bedeutung erlangt.

III. KLINISCHE BEDEUTUNG DER GLDH-AKTIVITÄTS-BESTIMMUNG IM SERUM UND DES $\frac{GOT + GPT}{GLDH}$-QUOTIENTEN

Die Bedeutung des GLDH-Nachweises für die klinische Diagnostik ergibt sich aus den schon dargestellten Besonderheiten, daß dieses Ferment als weitgehend leberspezifisch angesehen werden kann und ausschließlich in den Mitochondrien enthalten ist.

Im Gegensatz zu den Transaminasen, bei denen es nach heutigen Kenntnissen schon bei Permeabilitätsänderungen der Zellmembran zu einem vermehrten Enzymaustritt aus den Zellen kommen kann (58, 22, 50, 66), werden für den GLDH-Anstieg im Serum schwere Zellschäden, die zu Veränderungen der Mitochondrien führen, hauptsächlich verantwortlich gemacht. Bei Schädigung der Zelle ist also zunächst mit einem Austritt bzw. Freiwerden der Enzyme zu rechnen, die sich im Cytoplasma finden (z. B. GPT, Teil der GOT), dann mit dem Freiwerden der Fermente, die in den Mitochondrien enthalten sind (z. B. GLDH, Teil der GOT). Allerdings wird die Durchschaubarkeit der Enzymverhältnisse im Serum unter anderem dadurch erschwert, daß die verschiedenen Fermente sich mit unterschiedlicher Geschwindigkeit im extrazellulären Raum verteilen und verschieden schnell eliminiert werden. Deshalb kann bei Schädigung der Zelle im Serum ein Enzymmuster identifiziert werden, das nur in "verzerrter" Form den Zellenzymbesatz widerspiegelt. Dieses "verzerrte" Organmuster im Serum kann aber noch durch eine Reihe anderer Faktoren beeinflußt werden. So gehen in gleichen Zellorganellen lokalisierte Fermente bei Nekrose nicht in gleicher Weise in Lösung, wie eingangs am Beispiel der in den Mitochondrien lokalisierten GLDH im Gegensatz

zu den Atmungskettenfermenten dargestellt wurde. Der Enzymbesatz des Organs kann ferner durch die Schädigung verändert sein. Bekannt sind außerdem Fermentmischmuster des Serums, die durch Beteiligung anderer Organe entstehen.

Es wird auch die Möglichkeit diskutiert, daß unter pathologischen Bedingungen die intrazellulären Lysosome ihre Hydrolasen verlieren und eine Enzyminaktivierung durch "Selbstverdauung" innerhalb der Zelle stattfindet. Es ist verständlich, daß es diagnostisch wenig ergiebig sein muß, lediglich die GLDH im Serum zu bestimmen. Es hat sich deshalb auch eingebürgert, die GLDH zusätzlich zu den Transaminasen zu messen. Von dem Gedanken ausgehend, daß eine Gegenüberstellung von Transaminasen und GLDH möglicherweise weitere Information über Art, Intensität und Ablauf der Zellschädigung liefert, wurde von verschiedenen Autoren der GOT + GPT/GLDH-Quotient berechnet (66, 33).

Auf die überaus zahlreiche Literatur, die über die beiden Transaminasen vorliegt, kann im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen werden. Zusammenfassende Darstellungen finden sich bei AMELUNG (2) und HESS (27). Hier sollen nur die Arbeiten erwähnt werden, die sich mit der Bestimmung der GLDH und des GOT + GPT/GLDH-Quotienten befassen.

REES (54) untersuchte das Verhalten der GLDH an tetrachlorkohlenstoffgeschädigten Ratten. Sechs Stunden nach Verabfolgung des Tetrachlorkohlenstoffs konnte ein Serumfermentanstieg der zum überwiegenden Teil cytoplasmatisch lokalisierten Isozitratdehydrogenase und der Malatdehydrogenase gemessen werden, während die ausschließlich mitochondrial lokalisierte Glutamat-Dehydrogenase erst nach Verlauf von

12 Stunden anzusteigen begann. Parallele histologische Untersuchungen bestätigten verhältnismäßig spät auftretende Mitochondrienschäden, die in keinem Fall den Fetteinlagerungen in der Leber vorausgingen. Der Autor fand die unspezifischen Plasmaenzyme als Indikator für experimentell gesetzte Leberschäden allen anderen Methoden überlegen.

Für die Diagnose und Verlaufsbeobachtung von Lebererkrankungen beim Menschen ist die Messung der Transaminasen- und der GLDH-Aktivitäten bedeutungsvoll geworden. Bei akuterHepatitis beispielsweise auftretende diffuse Schäden vorwiegend ergastoplasmatischer Zellstrukturen führen zum erheblichen Anstieg beider Transaminasen, wobei in ca. 90 % der Fälle der GPT-Aktivitätsanstieg im Serum den der GOT übertrifft. Das Phänomen kann durch die zu etwa 40 % mitochondrial lokalisierte GOT erklärt werden.

Liegt die GOT-Aktivität im Serum ähnlich hoch wie die der GPT oder höher als diese, bei hohen Aktivitäten beider Enzyme, so läßt dies auf eine schwere nekrotisierende Hepatitis schließen. Gleichzeitig werden verhältnismäßig hohe GLDH-Aktivitäten im Serum gefunden.

Der von SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT (67) eingeführte Quotient $\frac{GOT + GPT}{GLDH}$ fällt dabei bis annähernd dreißig.

Als Folge von Gallengangsverschlüssen wurden mehrfach hohe Aktivitäten der GLDH gemessen. So beobachteten SCHMIDT und SCHMIDT (67), daß unmittelbar nach Verschlußbeginn, im Gegensatz zu der langsam fortschreitenden histologischen Veränderung, ein rascher initialer Anstieg der GLDH im Serum auf relativ hohe Werte stattfindet. Dem initialen Anstieg folgt ein Abfall innerhalb 3,5 Tagen auf den "Verschluß-

pegel" und erst nach verhältnismäßig langer Zeit ein erneuter, jetzt aber den pathologisch-anatomischen Veränderungen progredienter Anstieg der Enzymaktivitäten. Auffällig war ferner, daß neben den hohen GLDH-Aktivitäten relativ geringe Werte für die Aktivitäten beider Transaminasen im Serum gemessen wurden.

Der mehrfach klinisch wie experimentell beobachtete rasche Anstieg der Serum-GLDH überrascht und ist ursächlich schwer zu erklären. E. und F. W. SCHMIDT interpretieren ihn mit dem Auftreten disseminierter Einzelzellnekrosen, die unter Drucksteigerung in den Gallenwegen und durch Einwirken rückgestauter Galle entstehen.

Der geringe Anstieg beider Transferasen erklärt sich aus der nur wenig auffälligen diffusen Parenchymschädigung, die histologisch bestätigt wurde. Die histologischen Befunde in bezug auf Einzelzellnekrosen beim frischen Verschlußikterus sind hingegen nicht eindeutig (16).

Besonders auffällig ist, im Gegensatz zum extrahepatisch bedingten Verschlußsyndrom, der unverhältnismäßig geringe Anstieg der Serum-GLDH bei entzündlichen Lebererkrankungen anderer Genese, bei denen es zu einer weit stärkeren Mitochondrienschädigung als beim extrahepatischen Verschluß kommt. Eine überzeugende Begründung ist der zugänglichen Literatur, in welcher das Problem ebenfalls diskutiert wird, nicht zu entnehmen (16, 21, 87).

AMELUNG (2) diskutiert die Möglichkeit einer differentialdiagnostischen Abgrenzung von Hepatitiden mit intrahepatischem Verschlußsyndrom gegen den extrahepatisch bedingten Verschlußikterus. Dieser Differentialdiagnose kommt bezüglich der therapeutischen Verfahrensweise, nämlich der Entscheidung über einen chirurgischen Eingriff, eine erhebliche Bedeutung zu. AMELUNG hebt die Untersuchungen von E. und F. W. SCHMIDT

hervor, glaubt aber, daß die Bestimmung der GLDH-Aktivität und des GOT + GPT/GLDH-Quotienten die Aussagekraft des sogenannten De-Ritis-Quotienten (GOT/GPT) für eine Differentialdiagnose nicht übersteigt.

SCHMIDT und SCHMIDT (72) stellten Fermentkonstellationen im Serum des Menschen bei Lebererkrankungen tabellarisch zusammen (Tabelle V).

Tabelle V

Art der Erkrankung	GOT + GPT/GLDH
akute Hepatitis	über 50
akuter Schub bei chron. Hepatitis u. Cirrhose	30 - 40
biliäre Cirrhose	10 - 20
Verschlußikterus	5 - 15
Metastasenleber	unter 10
Fettleber	- (kein Anstieg der GLDH-Aktivität)

SCHÖN und BRAUNE (75) untersuchten das Verhalten der Glutamat-Dehydrogenase bei Lebererkrankungen. In mehr als 500 Vergleichsuntersuchungen kommen sie zu dem Ergebnis, daß weder zur Verlaufsbeobachtung noch zur Differentialdiagnose des Ikterus der GLDH-Bestimmung eine die Aussage der GOT und GPT übersteigende Bedeutung zukommt. Sie betonen vielmehr daß die Transferasen deutlich überlegen sind. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von SCHMIDT

fanden sie bei einem Großteil der Patienten mit akuter Hepatitis sowie bei inaktiver Cirrhose nur geringgradig über die Norm hinausgehende GLDH-Aktivitäten. Beim dystrophischen Schub chronischer Hepatitiden imponierten die erheblichen GLDH-Anstiege. Metastasenleber und extrahepatische Verschlüsse gingen jedoch mit annähernd normalen Aktivitäten einher.

E. und F.W. SCHMIDT (69) untersuchten den Enzymfächer der Leber bei akuter Hepatitis und vergleichen ihn mit dem Bestand des gesunden Organs (Tabelle VI). Ihre Methode bestand in fraktionierter Extraktion von Lebergewebe und gesonderter Bestimmung der Enzyme der cytoplasmatischen und mitochondrialen Zellräume.

Sie fanden die GOT-Gesamtaktivität der Hepatitisleber nicht vermindert, wohl aber eine Abnahme der GOT-Komponente des mitochondrialen Raumes um ca. 50 %. Die ca. 11 % der GPT-Lebergesamtaktivität enthaltende Mitochondrienfraktion schwindet völlig.

Die GLDH-Gesamtaktivität sinkt bei akuter Hepatitisleber um die Hälfte.

Auch bei der Hepatitisleber wurde der gesamte GLDH-Gehalt mitochondrial lokalisiert gefunden. Im cytoplasmatischen Bereich wurden keine Aktivitäten gemessen.

Die Änderung des Enzymverteilungsmusters wird bei akuter Hepatitis von einer gleichsinnigen Verschiebung in der Verteilung des Extraktproteins begleitet. Die festgestellte Verarmung des Lebergesamtgehaltes an Extraktprotein um durchschnittlich 17 % geht völlig zu Lasten des Proteins des M-Raumes.

Ferner überrascht die Beobachtung von SCHMIDT, daß ein erheblicher Teil

der Aktivitätsverschiebung des akut entzündeten Organs auf Veränderungen im Bereich der Mitochondrien entfällt, während der Enzymplasmaspiegel vor allem durch cytoplasmatisch lokalisierte Enzyme geprägt wird (Tabelle VI).

Tabelle VI n. E. und F. W. SCHMIDT (

Enzym	Gesamtaktivität x gesunder Leber	% Aktivität C.R.	M.R.	Gesamtaktivität x Hepatitisleber	% Aktivität C.R.	M.R.
GLDH	92	0	100	40	0	100
GOT	95	61	39	98	83	17
GPT	58	89	11	40	100	0

x = Mol Substrat umgesetzt/gr. Frischgewicht/min.
C.R. = cytoplasmatischer Raum
M.R. = mitochondrialer Raum

FILIPPA (15) schlägt eine Verwendung des Quotienten GLDH/GPT zum Gebrauch in der Leberdiagnostik des Menschen vor. Die obere Normgrenze der Serumaktivität soll dabei gleich 1 gesetzt werden. Dieser Quotient soll wesentlich feinere Kriterien in der Differentialdiagnose des Ikterus erlauben als enzymatisch bisher möglich waren.

Als obere Normgrenze fanden, basierend auf Untersuchungsergebnissen an der Medizinischen Poliklinik der Universität Zürich, 1,6 IE/ml für die GLDH und 16 IE für die GPT im Quotienten Verwendung.

In 35 Fällen von akuter Hepatitis fand FILIPPA Q = 0,4, in 15 Fällen von intermittierendem Steinverschluß Q = 6, in 17 Fällen von frischem vollständigem Verschlußikterus durch Tumoren betrug Q = 4 und in

18 Fällen von über drei Wochen altem, vollständigem Verschlußikterus durch Tumoren Q = 2. Bei alten Verschlüssen erfolgte im Verlauf mehrerer Wochen der Abfall auf Werte von 1 - 5 IE/ml GLDH. Stets konnte beim Gallengangsverschluß ein Quotient über 1,5, beim Parenchymikterus hingegen meist deutlich unter 1 ermittelt werden. Bei cholostatischer Hepatitis näherte sich der Quotient 1 und erreichte selten höhere Werte als 1,4. Der extremste GLDH-Anstieg wurde beim intermittierenden Verschluß beobachtet.

Mit diesen Untersuchungen wurden eindrucksvoll die erstmals von E. und F. W. SCHMIDT beschriebene, erhebliche Erhönung der GLDH-Aktivität des Serums bei Gallengangsverschlüssen in Verbindung mit relativ niedrigen Transaminasewerten bestätigt. Die alleinige Bestimmung der GLDH-Serumaktivität für die Differentialdiagnose von Lebererkrankungen ist, wie beide Autoren betonen, nutzlos. Erst die Auswertung der Enzymrelation macht eine differentialdiagnostische Anwendung möglich.

Die hauptsächliche Bedeutung des SCHMIDTschen Quotienten wird in der verbesserten Möglichkeit der Abgrenzung eines Verschlußikterus von einem hepatozellulären Ikterus in der Humanmedizin gesehen (66).

Über das Verhalten der Serum-GLDH bei Erkrankungen des Hundes wurde in der mir zugänglichen Literatur nicht berichtet.

IV. BESTIMMUNGSMETHODEN UND ENZYMEINHEITEN

Der Ausdruck quantitativer Enzymgrößen in absoluten Werten ist nur in sehr vereinzelten Fällen möglich.

Aus praktischen Gründen wurden deshalb Enzymeinheiten eingeführt, die unter definierten Bedingungen an der Reaktionsgeschwindigkeit der katalysierten Reaktion orientiert sind.

Die Bedingungen des Reaktionsablaufs wurden nicht einheitlich gewählt, so daß die Enzymeinheiten, die meist nach den Autoren benannt wurden, nur über eine Umrechnung mit Faktoren, zum Teil überhaupt nicht miteinander verglichen werden können. So sind für die in vorliegender Arbeit behandelten NAD- oder NADP-abhängigen Enzymreaktionen Einheiten nach WROBLEWSKI, BÜCHER, AMELUNG-HORN oder HOLZER gebräuchlich.

Die Enzymkommission der Internationalen Gesellschaft für Biochemie hat 1961 eine Standardisierung der Enzymeinheit vorgeschlagen. Eine Enzymeinheit U entspricht danach der Menge an Enzym, welche die Umsetzung von 1 Mikromol (µ mol) Substrat pro Minute unter definierten Bedingungen katalysiert. Dabei soll die Temperatur, wie empfohlen wurde, 25° C betragen. Die Reaktionsbedingungen, insbesondere pH und Substratkonzentrationen, sollen optimal sein.

Für Bestimmungen in Körperflüssigkeiten bedient man sich der Milli-einheit/ml, wobei man unter einer Millieinheit ein Tausendstel µmol/min. im Bezugssystem versteht.

Den Vorschlägen der Enzymkommission wurde in vorliegender Arbeit entsprochen.

Als Bestimmungsmethode der GLDH-Aktivität wurde in älteren Untersuchungen ein von THUNBERG angegebenes Verfahren angewendet, das Methylenblau als Wasserstoffacceptor nutzte und die Entfärbungszeit bewertete. Das Verfahren kann nach BÄSSLER (3) allenfalls als halbquantitative Methode gelten und sollte nur zu Orientierungszwecken benutzt werden.

Bedeutung für Aktivitätsmessungen in Homogenaten und trüben Mitochondriensuspensionen sowie von intakten Mitochondrien, die undurchlässig für Adenindinucleotide sind, erlangte die manometrische Bestimmung der Sauerstoffaufnahme bei der Glutamatoxydation. Weil alle Enzyme der Atmungskette in die Reaktion eingeschaltet sind, erhält man brauchbare Werte nur, wenn Glutaminsäure-Dehydrogenase der geschwindigkeitsbegrenzende Faktor ist (9).

Die Messung des bei der oxydativen Desaminierung entstehenden Ammoniaks als Maß für die Enzymaktivität der GLDH ist sehr aufwendig und erlangte keine allgemeine Verbreitung.

Beim Farbtest, der sowohl bei der GOT als auch bei der GPT Verwendung findet, wird ein an der enzymatischen Reaktion beteiligter Partner (Substrat oder Reaktionsprodukt) nach Reaktionsablauf unter Standardbedingungen in eine photometrisch meßbare Farblösung überführt, deren Farbänderung der Enzymaktivität proportional ist. Auch andere im Blut enthaltene Ketosäuren (Diabetes) können neben dem Pyruvat unter Hydrazonbildung reagieren und das Meßergebnis beeinflussen. BERGMEYER (6) weist auf die größere Fehlerbreite des Farbtests von annähernd 20 %, im Gegensatz zum UV-Test hin. Schwankungen der Ergebnisse des Farbtests und schwer reproduzierbare Werte werden auch von anderen Autoren beschrieben (44).

Als genaueste Methode bei der Bestimmung von Enzymen, die Adenindinucleotide als Coenzym benötigen, wird übereinstimmend der "Optische Test" gewertet. Dieser Test kann auch für andere, enzymatisch beeinflußte Reaktionen verwendet werden, wenn sich diese Reaktionen mit dem Optischen Test koppeln lassen. Man bezeichnet das Verfahren sodann als "zusammengesetzten Optischen Test".

Die Grundlage des Optischen Tests bildet die Beobachtung WARBURGs (85), daß NAD und NADP im oxydierten Zustand ein anderes Absorptionsspektrum aufweisen als im reduzierten. Die reduzierten Adenindinucleotide weisen bei einer Wellenlänge von 340 nm ein ausgeprägtes Absorptionsmaximum auf, während in oxydiertem Zustand im Wellenlängenbereich von 300 - 400 nm keine Absorption nachweisbar ist. Die Geschwindigkeit der Substratumsetzung ist mit der gekoppelten Dehydrierung von NAD der zu messenden Enzymaktivität proportional.

Die NAD wird in stöchiometrischem Verhältnis zur Reaktion umgesetzt. Trotz der durch die Empfehlungen der Internationalen Gesellschaft für Biochemie standardisierten Bedingungen für Enzymaktivitätsmessungen, die überall reproduzierbar sind, galt die Übernahme von Normalwerten aus der Literatur als unkorrekt.

So weist RICHTERICH (55, 56) nachdrücklich auf die Notwendigkeit der speziellen Normalwerte jeden Laboratoriums hin.

Dem widersprechen FEISSLI, FORSTER et al. (14), die exakte Reproduktion der Methode oder sachgemäße Verwendung zuverlässiger Testkombinationen bei brauchbaren Photometern vorausgesetzt, die Forderung nach eigenen Normalwerten ablehnen.

Die Verfasser analysieren die Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen an umfangreichen Kollektiven. Zwar erscheinen statistisch belegbare Unterschiede der Mittelwerte der verschiedenen Arbeitsgruppen, doch werden diese im Rahmen der zugehörigen biologischen Streuung als bedeutungslos empfunden.

LOWRY (39, 40) modifizierte den Optischen Test für Mikrobestimmungen. Grundlage seiner Methode ist die fluorometrische Messung des mit fortschreitender Reaktion entstehenden NAD. Dadurch sind Aktivitätsbestimmungen in Proben ab 0,005 g Trockengewicht möglich geworden. Durch Nadelbiopsie gewonnene Organproben sind mit dieser Methode durch verschiedene Untersucher auf ihren enzymatischen Besatz untersucht worden.

V. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die eigenen Untersuchungen hatten zum Ziel, den Normalwert der Glutamat-Dehydrogenase im Blut klinisch gesund erscheinender Hunde festzustellen. Ferner sollten die GOT- und GPT-Aktivitäten des Serums gemessen werden, um das Verhalten des $\frac{GOT + GPT}{GLDH}$-Quotienten studieren zu können.

1. MATERIAL UND METHODE

Im Rahmen der Aufgabenstellung wurden 128 Hunde verschiedener Rassen und unterschiedlichen Alters untersucht.

73 der Hunde waren männlichen Geschlechts und 55 Tiere weiblich (Tabelle VII - IX). Ein physiologischer Status, wie ihn Läufigkeit oder Trächtigkeit darstellen, wurde bei den Untersuchungen nicht berücksichtigt. Der eingesehenen Literatur ist nicht zu entnehmen, daß ein solcher Einfluß besteht. Das der vorliegenden Untersuchung zugrunde liegende relativ geringe Material hätte diesbezüglich eine statistische Auswertung der Ergebnisse nicht möglich gemacht.

Soweit es sich bei den untersuchten Hunden um Patienten der hiesigen Klinik handelte, mußte ihre Erkrankung von der Art sein, daß ein Einfluß auf Serumaktivitäten der zu bestimmenden Fermente nicht zu erwarten und ferner eine Therapie mit Arzneien, von denen eine Auswirkung auf den Fermentpegel des Blutes (z. B. Corticosteroide) bekannt ist, nicht durchgeführt worden war (5, 36).

Die Bestimmung der Fermente erfolgte auf der Grundlage des von WARBURG und Mitarb. (85) entwickelten Optischen Tests. Die Messung

erfolgte mit dem Photometer "Eppendorf" bei einer Wellenlänge von Hg 366 nm.

Für die Untersuchungen wurden die "Biochemica-Test-Combination" TC-Y, Art. Nr. 15995, für die Bestimmung der GLDH sowie die Combination TC-A-I, Art. Nr. 15871, für die GOT-Bestimmung und TC-H-I, Art. Nr. 15978, für die Aktivitätsmessung der GPT benutzt. Hersteller der Bestecke ist die Firma Boehringer & Soehne in Mannheim.

Während die Bestimmungsmethode der GLDH auf der Messung des direkt unter Enzymeinwirkung oxydierten NADH beruht, sind die letzteren sogenannte gekoppelte Tests, bei denen die zu messenden Enzymaktivitäten eine Primärreaktion beeinflussen, deren Reaktionsprodukte wiederum als Substrat für eine Sekundärreaktion dienen, welche durch ein das Coferment NADH enthaltendes Ferment katalysiert wird. Der die Umsatzgeschwindigkeit begrenzende Faktor ist somit das zu bestimmende Ferment, während die nachfolgende Hilfsreaktion zur photometrischen Anzeige der Aktivität genutzt wird.

Den Testkombinationen sind Arbeitsanweisungen beigegeben, die die Durchführung der Methodik festlegen und die Zusammensetzung und Haltbarkeit der Reagentien bei sachgerechter Lagerung angeben.

Nach der Vorschrift des Herstellers wurden für die Bestimmung der GLDH-Aktivität 1 ml Serum, 2,0 ml der Lösung des 0,5 m Triaethanolpuffers (pH 8,0) und 0,004 m Aethylendiamin-Tetraacetats, 0,1 ml des 3,2 m Ammoniumacetats und 0,05 ml des 0,012 m NADH in ein Reagenzglas pipettiert, gemischt und ca. 20 Min. ("Vorlauf" = Ablauf der Reaktion mit Metaboliten des Serums) bei 25° C im Wasserbad belassen.

Die Lösung wurde sodann in eine Küvette gegossen und die Extinktion E_1 gemessen.

Die Küvette wurde weiter unter temperaturkonstanten Bedingungen bei einer Temperatur von 25° C gehalten und nach Ablauf von 10 Min. Extinktion E_2 gemessen.

Sodann wurde 0,05 ml des 0,41 m Ketoglutarats einpipettiert und anschließend Extinktion E_3 gemessen.

Bei Temperaturkonstanz (25° C) wurde nach Ablauf weiterer 10 Min. Extinktion E_4 gemessen, sodann Extinktionsdifferenz ($E_1 - E_2$) von Extinktionsdifferenz ($E_3 - E_4$) abgezogen.

Zwecks Bestimmung der GOT-Aktivität wurden 3 ml des 0,1 m Phosphatpuffers (pH = 7,4) und 0,04 m L-Aspartats mit 0,05 ml des 0,012 m NADH und 0,05 ml der 0,25 mg MDH/ml und 0,25 mg LDH/ml sowie 0,5 ml des zu untersuchenden Serums in ein Reagenzglas pipettiert, gemischt und ca. 5 Min. bei 25° C im Wasserbad belassen.

Anschließend wurde 0,1 ml des 0,25 m Ketoglutarats einpipettiert, gemischt, in eine Küvette umgegossen und photometrisch Extinktion E_1 gemessen. Gleiczeitig wurde die Stoppuhr gestartet und die Ablesung nach 1, 2 und 3 Min. wiederholt.

Aus den Extinktionsdifferenzen pro Minute wurde der Mittelwert gebildet und dieser in die Berechnung eingesetzt.

Der Bestimmungsansatz für die Messung der GPT-Aktivität bestand aus 3,0 ml des 0,1 m Phosphatpuffers (pH = 7,4) und 0,08 m des DL-Alanins, 0,05 ml des 0,012 m NADH, 0,05 ml der 0,25 mg LDH/ml und 0,5 ml des zu untersuchenden Serums, die in ein Reagenzglas pipettiert und gemischt wurden. Nach Belassen im Wasserbad bei 25° für 5 Minuten wurde 0,1 ml des 0,25 Ketoglutarats zupipettiert, gemischt, in eine Küvette gegossen und photometrisch Extinktion E_1 gemessen. Gleichzeitig

wurde die Stoppuhr gestartet und nach Ablauf von 1, 2 und 3 Minuten die Ablesung wiederholt.

Aus den Tabellen können die Werte der Enzymaktivitäten anhand der gemessenen Extinktionseinheiten entnommen oder für die unterschiedlichen Wellenlängen der jeweiligen Meßstrahlen mittels Faktoren errechnet werden.

Nähere Einzelheiten der Durchführung der Bestimmungen sind den Arbeitsanweisungen zu entnehmen.

Die geforderte Temperaturkonstanz von 25° C für die katalysierte Reaktion wurde durch Wasserbad der Küvetten im Ultrathermostat erzielt.

Die Reinigung der verwendeten Glasgeräte erfolgte unter Beachtung der speziell für Enzymbestimmungen geltenden Kautelen nach den Angaben von METALLINOS (45).

Das zur Serumgewinnung verwendete Blut wurde der Vena cephalica antebrachii entnommen. Bei Tieren bis zu einem Alter von etwa 4 Monaten erfolgte die Blutentnahme aus der Vena jugularis.

Die Bedeutung der Hämolysefreiheit des zu untersuchenden Serums für Aktivitätsbestimmungen der Transaminasen wird in der eingesehenen Literatur einhellig hervorgehoben (22, 92). Deshalb wurde auf kontinuierlichen Fluß des entnommenen Blutes geachtet und eine mechanische Beanspruchung des Blutes möglichst vermieden. Zur Venenpunktion wurden meist Einmalkanülen, seltener weitlumige Injektionsnadeln aus V_2a-Stahl verwendet. Als Entnahmegefäße dienten silikonisierte Zentrifugengläser.

Nach mindestens halbstündigem Stehen wurde die Blutprobe bei ca. 4000 Umdrehungen/min. 20 Minuten lang zentrifugiert und das überstehende Serum dekantiert.

2. VORUNTERSUCHUNGEN

a. Variation der Wellenlänge der Meßstrahlen des Photometers "Eppendorf"

Im Rahmen der Vorversuche wurde die Möglichkeit der Verwendung eines Filters von Hg 334 nm Wellenlänge untersucht.

Der Gebrauch dieser kurzwelligeren Strahlen aus dem Spektrum der Quecksilberdampflampe hätte in den unmittelbaren Bereich des Maximums des Differenzspektrums, das bei etwa 340 nm liegt, geführt und die "Dihydrobande" als charakteristische Änderung des Absorptionsspektrums bei der partiellen Hydrierung der Nicotinamid-Adenindinucleotide fast verdoppelt. Der mit der Extinktionsänderung korrelierende Extinktionskoeffizient hätte sich ebenfalls nahezu verdoppelt (λ = 366 nm = $3,30 \times 10^6$ cm/mol, λ = 334 nm = 6×10^6 cm/mol). Der Ablesefehler hätte so reduziert werden können, den ein Tausendstel einer Extinktionseinheit erscheint zwar in der Berechnung, muß jedoch geschätzt werden, da die Graduierung selbst im optimalen Ablesebereich nur die Fünftausendstel-Unterteilung darstellt.

Bei der Berechnung wäre die höhere Extinktionsänderung durch einen Faktor kompensiert worden. Der Gebrauch dieses kürzeren UV-Bereichs hätte auch eine weitgehende Unabhängigkeit von nicht sicher auszuschließenden geringen Temperaturschwankungen zur Folge gehabt, da die photometrische Einrichtung ohne temperierten Küvettenhalter benutzt wurde.

Die Prüfung ergab jedoch eine zu geringe Intensität der Meßstrahlen, die auch durch den Kompensationsstufenschalter des Geräts nicht ausgeglichen werden konnte. Die Übertragung der geringen Intensität über die Photozelle auf den Anzeigteil geschah nur schleichend, der Ausschlag war bei wiederholten Kontrollmessungen ungleichartig.

Die Zusatzgeräte des Photometers "Eppendorf" für eine Fluoreszensmessung, die die Empfindlichkeit um 2 - 3 Zehnerpotenzen erhöhen würde und im Prinzip für alle NAD- und NADP-abhängigen Reaktionen anwendbar ist, wurden nicht geprüft.

b. Bestimmung des methodischen Fehlers

Der ermittelte Aktivitätswert des Serums ist mit einem Fehler behaftet, der aus Unterschieden der individuellen Arbeitsweise, aus Pipettier- und Ablesefehlern, aus Temperaturschwankungen und geringgradiger Verunreinigung der Küvettenoberfläche resultiert. Ebenso wird sich eine Beeinflussung durch den apparativen Aufbau einstellen.

Kenntnis dieses Fehlers ist notwendig, um die Genauigkeit der Methode zu bewerten und die ermittelten Aktivitätswerte entsprechend kritisch würdigen zu können.

Von vier Seren wurden je acht Bestimmungen sowohl der GLDH als auch der GOT und GPT durchgeführt.

Der Methodische Fehler wurde sodann mittels einfacher Varianzanalyse ermittelt.

Als Beispiel wird nachfolgend die Ermittlung des Methodischen Fehlers bei der Bestimmung der GLDH demonstriert.

Tabelle VII

GLDH in mU/ml

Hund	j	.	.	.	.	.	.	.	Ti	Ti^2
i 1	1,07	1,16	1,16	1,07	1,07	1,07	1,07	1,16	8,83	77,9689
. 2	1,84	1,75	1,84	1,84	1,84	1,75	1,84	1,84	14,54	211,4116
. 3	2,13	2,04	2,04	2,13	1,94	2,04	2,04	2,04	16,40	268,9600
. 4	0,68	0,78	0,68	0,78	0,78	0,78	0,78	0,68	5,94	35,2836

$$SAQ_A = \sum_i \frac{Ti^2}{J} - \frac{T..^2}{n} = 8,9091$$

$$SAQ_R = \sum_i \sum_j yij^2 - \frac{Ti^2}{J} = 0,0716$$

$i = 1, 2, \ldots I\ (4)$

$j = 1, 2, \ldots J\ (8)$

$n = IJ$

$$s_A^2 = \frac{SAQ_A}{4 - 2} = 2,9697$$

$$s_R^2 = \frac{SAQ_R}{n - 4} = 0,025$$

$$s_R = 0,05 =$$

$$V\ \% = \frac{100\ s_R}{x} = 3,50\ \%$$

$$F = \frac{s_A^2}{s_R^2} = 1187,88 \rangle F_{0,99;\ 3,28} = 4,57$$

Erläuterung

$\sum_i \sum_j yij$ = Summe aller Einzelwerte

Ti = Summe der Einzelwerte der Mehrfachbestimmungen des i-ten Hundes

$T..$ = Summe aller Einzelwerte

n = Summe aller Bestimmungen

SAQ_A = Summe der Abweichungsquadrate zwischen den Zeilen i (zwischen den Hunden)

SAQ_R = Summe der Abweichungsquadrate innerhalb der Zeilen i (innerhalb der Hunde)

s_A^2 = Summe der Abweichungsquadrate zwischen den Zeilen i, dividiert durch die Anzahl der Freiheitsgrade (mittleres Abweichungsquadrat zwischen den Hunden)

s_R^2 = Summe der Abweichungsquadrate innerhalb der Zeilen i, dividiert durch die Anzahl der Freiheitsgrade (mittleres Abweichungsquadrat innerhalb der Hunde)

$V\%$ = Variationskoeffizient in %

ς = Schätzwert des methodischen Fehlers

Für die GLDH wurde, wie aus der vorstehenden Berechnung hervorgeht, ein prozentualer Methodischer Fehler von $\pm$ 3, 5 % geschätzt.

Der entsprechende Wert beträgt für die GOT $\pm$ 4, 9 % und für die GPT $\pm$ 4, 3 %.

Für praktische Zwecke spielt die In-Vitro-Alterung der Enzyme im Serum eine Rolle.

FEISSLI, FORSTER et al. (14) lagern humanes Serum bei verschiedenen Temperaturen und finden für die hier interessierenden Fermente nach dreitägiger Lagerung bei 4° C eine Aktivitätsabnahme von durchschnittlich 10 %. Lagerung über die gleiche Zeit bei 25° C führte zu einem Aktivitätsschwund von ca. 20 %.

Diese Werte harmonieren mit den Ergebnissen von MASSARAT (41), der die Transaminasen-Aktivitätsminderung bei Aufbewahrung des Serums unter verschiedenen Bedingungen untersuchte und von E. und F. W. SCHMIDT (71), die bei Aufbewahrung im Kühlschrank bis zum vierten Tag nach der Blutentnahme im Durchschnitt einen 10%igen Aktivitätsverlust für jedes der drei Enzyme feststellten.

Das für die vorliegenden Untersuchungen verwendete Serum wurde stets innerhalb von höchstens vier Stunden nach der Blutentnahme zur Aktivitätsbestimmung herangezogen. Eine Aktivitätsabnahme infolge In-Vitro-Alterung der Enzyme im Serum hat deshalb für die Untersuchung nur geringe Bedeutung.

Vorversuche über die Aktivitätsabnahme bei Aufbewahrung des Serums wurden nicht durchgeführt.

3. ERGEBNISSE DER HAUPTUNTERSUCHUNGEN

a. GLDH-Aktivitäten im Serum klinisch gesund erscheinender Hunde unter Berücksichtigung des Geschlechts und des Alters

Die Prüfung eines möglichen Alterseinflusses auf den GLDH-Wert wurde zunächst bei den 73 Rüden und 55 Hündinnen getrennt untersucht.

Zu diesem Zweck wurden die Rüden in vier Altersklassen unterteilt (Tabelle IX). Von der häufig benutzten altersmäßigen Klasseneinteilung in Junghunde bis zu einem Jahr wurde abgesehen, weil überschlagsweise durchgeführte Berechnungen auf eine darüber hinausgehende Differenzierung innerhalb dieser Altersklasse hinzuweisen

schienen. Die Unterteilung in Junghunde bis sechs Monate sowie in eine weitere Klasse von sechs bis zwölf Monaten konnte indes nur bei den Rüden durchgeführt werden, weil die Anzahl der Probanden weiblichen Geschlechts zu gering war und die jüngste Altersklasse nur drei zu verwertende Meßwerte aufgewiesen hätte.

Die mittleren GLDH-Werte der nach Geschlecht getrennten Altersklassen sowie der Altersklassen des Gesamtmaterials können aus den graphischen Darstellungen I, II und III ersehen werden.

Die Prüfung des Altersunterschiedes wurde mit Hilfe einer einfachen Varianzanalyse vorgenommen.

Dabei wurde angenommen, daß sich die gesamte Streuung aus der biologischen Streuung zwischen den Hunden sowie einer von den Altersklassen herrührenden Variation zusammensetzt.

Der Rechengang wurde eingangs am Beispiel der Bestimmung des Methodischen Fehlers der GLDH ausführlich dargestellt.

Nachfolgend wird er für die Analyse der männlichen Tiere demonstriert.

Tabelle der Varianzanalyse

ariationsursache	Freiheitsgrade (FG)	Summe der Abweichungsquadrate (SAQ_r)	mittlere Abweichungsquadrate (s_r^2)	Prüfgrößen (F)
Zwischen den Altersklassen	I - 1 4 - 1 = 3	$SAQ_A = 5,954$	$s_A^2 = 1,985$	$F = \frac{s_A^2}{s_R^2} = 11,028$
Innerhalb der Altersklassen (Rest)	n - I 73 - 4 = 69	$SAQ_R = 12,429$	$s_R^2 = 0,180$	
Gesamt	n - 1 = 72	$SAQ_G = 18,383$		

Der in Abhängigkeit von der Zahl der Freiheitsgrade des Zählers und des Nenners des vorliegenden Bruches (Prüfgröße F) der Tabelle (86) entnommene kritische Wert für eine vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit (α) von 0,05 beträgt 2,79 und für α = 0,01 4,20.

Je nach dem vorzugebendenα ist damit die Abgrenzung des Zufallsbereiches gegeben.

Der durch die Varianzanalyse ermittelte Wert F für die männlichen Tiere unter den Probanden ist mit 11,028 erheblich größer als der der Tabelle entnommene kritische Wert für α = 0,01.

Die 0-Hypothese "... es besteht kein Unterschied zwischen den Altersklassen in bezug auf die mittleren GLDH-Werte" mußte bei den Rüden verworfen werden. Die aus der graphischen Darstellung ersichtlichen Unterschiede sind somit als statistisch hochgesichert ($P < 0,01$) zu betrachten.

Analog wurde die Varianzanalyse der weiblichen Tiere und der gesamten Hunde unabhängig vom Geschlecht durchgeführt.

Im Gegensatz zu den Rüden mußte bei den weiblichen Tieren die 0-Hypothese noch akzeptiert werden, das heißt, die in der graphischen Darstellung erkennbaren, jedoch geringeren Unterschiede zwischen den mittleren GLDH-Werten der einzelnen Altersklassen sind für die 55 weiblichen Tiere noch als zufällig anzusehen.

Bevor ein gemeinsamer Alterseinfluß bei den Hunden untersucht wurde, mußte die Frage geprüft werden, ob hinsichtlich der mittleren GLDH-Werte in Abhängigkeit vom Geschlecht ein signifikanter Unterschied besteht.

Die zu diesem Zweck aufgestellte Prüfhypothese, daß kein Unterschied der mittleren GLDH-Werte zwischen den Geschlechter besteht, wurde

mit einem Zwei-Stichprobentest geprüft.

Zu beachten war jedoch hierbei, ob die unterschiedliche Altersverteilung bei den Rüden im Vergleich zu den weiblichen Tieren als einigermaßen gleich betrachtet werden kann. Der empirische Unterschied ist verhältnismäßig groß, da der Anteil an Rüden unter einem Jahr mit 33 Tieren erheblich größer ist als der der Hündinnen (16 Tiere). Die Altersverteilungen wurden jedoch als nicht signifikant voneinander verschieden festgestellt.

Es kann also ausgeschlossen werden, daß der Alterseinfluß einen möglichen Geschlechtsunterschied entweder entstehen ließ oder einen solchen verdeckte.

Die Zwei-Stichprobenprüfhypothese mußte für das zugrunde liegende Material akzeptiert werden. Der empirische Unterschied zwischen den Geschlechtern hat folglich Zufallscharakter.

Somit kann auch ohne weiteres die Gesamtzahl der Hunde ohne Unterschied des Geschlechts für die Prüfung des Altersunterschiedes herangezogen werden. Auch für diese Konstellation ergab sich ein signifikanter Alterseinfluß bei den mittleren GLDH-Werten, vor allem der Hunde bis zu einem Jahr, die signifikant höher als die älterer Hunde sind.

Die aus der Graphik ersichtlichen Unterschiede in der Höhe der mittleren GLDH-Werte insbesondere der Altersklassen bis zu einem Jahr ergaben zwischen den Geschlechtern keine signifikante Differenz.

Die Verteilung der Serumaktivitäten der GLDH ist als Übersicht für die untersuchte Stichprobe in Form eines Diagramms (Abb. Nr. 4) dargestellt. Der Modus, das heißt die größte Dichte der Werte, wurde für die gesamte Stichprobe bei 0,97 mU/ml gefunden. Die Art der Verteilung

kann nur andeutungsweise charakterisiert werden. Die schiefe Verlaufsform der Verteilungskurve ist vor allem auf unterschiedliche Mittelwerte der Altersgruppen zurückzuführen, wie aus der schraffiert eingezeichneten Verteilung der Hunde unter einem Jahr deutlich wird.

Eine Kennzeichnung physiologischer GLDH-Aktivitäten durch Angabe eines Normbereichs, wie er von zahlreichen Untersuchern für andere Fermente als Bereich der einfachen oder mehrfachen Standardabweichung vom arithmetischen Mittel angegeben wird, kann für die vorliegende Untersuchung nicht angewendet werden. Wegen der geringen Zahl untersuchter Hunde in den einzelnen Altersklassen sind zufriedenstellende Schätzungen der Normalbereiche nicht möglich.

Zur Charakterisierung des untersuchten Materials empfiehlt es sich, nur den Bereich anzugeben, in dem z. B. 90 % der gemessenen Werte liegen. Dieser Bereich erstreckt sich bei Hunden unter einem Jahr von 0,62 - 2,26 mU GLDH/ml und bei Hunden älter als ein Jahr von 0,41 - 1,94 mU GLDH/ml.

Als 95-%-Bereich der GLDH-Serumaktivität wurde für Hunde unter einem Jahr 0,55 - 2,41 mU GLDH/ml und für Hunde älter als ein Jahr 0,24 - 2,18 mU GLDH/ml gefunden.

b. Das Verhältnis der Transaminasenaktivität zur GLDH-Aktivität ($\frac{GOT + GPT}{GLDH}$ - Quotient)

Der von E. und F. W. SCHMIDT in die klinische Diagnostik eingeführte Quotient wurde bei den untersuchten Hunden zwischen 5,3 und 102,6 liegend gefunden.

Die Mehrzahl der Werte (GOT + GPT/GLDH) befindet sich zwischen 10 und 20. Der 90-%-Bereich wurde durch lineare Interpolation ermittelt und erstreckt sich von 7,0 bis 37,5.

VI. DISKUSSION

Die Bestimmungen ergaben eine Abhängigkeit der mittleren GLDH-Aktivitäten im Serum vom Alter der untersuchten Hunde.

Wie graphisch und tabellarisch sowie rechnerisch dargestellt wurde, sind die Serumaktivitäten dieses Fermentes bei Hunden bis zu einem Jahr für die Stichprobengesamtheit unabhängig vom Geschlecht signifikant höher als bei den folgenden Altersgruppen.

Altersabhängige Unterschiede im Serumenzymspiegel sind auch bei einer Reihe anderer Enzyme bekannt geworden. Dabei zeigen zumeist jugendliche Individuen höhere Aktivitäten als Erwachsene.

Die Tendenz höherer Fermentaktivitäten bei jugendlichen Tieren wird durch Untersuchungen an Hunden von SCHLEICHER (59) für die Fructose-1, 6-Diphosphataldolase, von BLOCK (7) für die Isozitronensäuredehydrogenase und von WÜRZNER (92) für die Lactatdehydrogenase bestätigt.

Die Ursache der physiologisch höheren Aktivität jugendlicher Individuen ist für die Mehrzahl der Fermente nicht geklärt.

Eindrucksvoll sind die hohen Werte der GOT, GPT, Lactatdehydrogenase und Fructose-1, 6-Diphosphataldolase in der menschlichen Neugeborenenphase (78). Möglicherweise kann die Säuglingsphase mit ihren hohen Fermentaktivitäten des Serums auch ursächlich von der eigentlichen Jugendperiode geschieden werden.

Tiere der eigentlichen Säuglingsphase waren,in dem für die vorliegende Untersuchung ausgewählten Material nicht vertreten.

FILIPPA (15), der zwecks Feststellung der physiologischen Grenzen der GLDH 80 gesunde Personen, darunter 12 Kinder untersuchte,fand bei diesen keine höheren GLDH-Aktivitäten des Serums.

An den Ergebnissen vorliegender Arbeit überrascht, daß die Altersklasse II (6 - 12 Monate) der männlichen Tiere einen deutlich höheren mittleren GLDH-Wert im Vergleich zu den anderen Klassen zeigt.

Während der Abfall der Aktivitätswerte bei den älteren Hunden Analogien zum Serumfermentpegel anderer Fermente aufweist, war der eingesehenen Literatur nichts ähnliches in bezug auf den signifikanten Unterschied zwischen den Altersklassen I (0 - 6 Monate) und II (6 - 12 Monate) der männlichen Hunde zu entnehmen. Diese Phänomen konnte bei den weiblichen Tieren nicht untersucht werden, weil die Altersklasse I (0 - 6 Monate) der weiblichen Tiere nur aus drei Tieren bestand.

Dieser Unterschied kann auch für das Gesamtmaterial unabhängig vom Geschlecht nicht mehr als signifikant gewertet werden.

Das Absinken der mittleren GLDH-Werte bei den höheren Altersklassen ist bei Tieren weiblichen Geschlechts weniger ausgeprägt als bei den Rüden.

Obwohl der mittlere GLDH-Wert in der ersten Klasse (0 - 12 Monate) der Hündinnen deutlich unter dem vergleichbaren Wert der Rüden liegt, ist der Mittelwert aller untersuchten weiblichen Tiere etwas höher als der der männlichen.

Dagegen fanden LAUDAHN (14) sowohl als auch E. und F. W. SCHMIDT (14) bei ihren Bestimmungen der GLDH im menschlichen Serum die Aktivitäten beim weiblichen Geschlecht geringgradig niedriger als beim männlichen. Jedoch ließ sich dieser Geschlechtsunterschied statistisch nicht sichern.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde der Modus der gesamten Stichprobe der untersuchten Hunde bei 0, 97 mU/ml für die GLDH-Aktivität gefunden.

Das stimmt sehr gut mit den Untersuchungen von F. W. SCHMIDT (73) überein, der bei Aktivitätsmessungen an Hunden (n = 48) die größte Häufigkeit von Aktivitäten der Serum-GLDH im Bereich von 1 mU/ml fand. Ebenso wie bei meinen Untersuchungen gingen auch bei denen von SCHMIDT die maximalen Aktivitäten gesunder Hunde nicht über 3 mU/ml hinaus.

Ob außer dem Alter noch andere Faktoren einen Einfluß auf die schiefe Verlaufsform der Verteilungskurve haben, konnte nicht geprüft werden. Der Einfluß latenter Organopathien im Hinblick auf eine rechtsseitig asymmetrische Verteilung wäre denkbar. Während die in einem solchen Fall frei werdenden Transaminasen in den Toleranzen der vergleichsweise erheblich höheren physiologischen Serumaktivitäten dieser Enzyme aufgefangen werden würden, könnte sich der Einstrom der GLDH in die Blutbahn infolge der geringen normalen Aktivität dieses Enzyms deutlicher bemerkbar machen. Ein unterschiedlicher quantitativer Enzymbesatz der Leberzelle könnte gleichfalls als Erklärung dienen.

E. und F. W. SCHMIDT (69) ermittelten, wie schon erwähnt, in der menschlichen Leber für die GLDH und die GOT etwa gleichgroße, für die GPT jedoch nur reichlich die Hälfte dieser Aktivitäten. In der Meerschweinchenleber sind die Proportionen sehr eindrucksvoll noch deutlicher zugunsten der GLDH verschoben. So beträgt die GLDH-Aktivität nahezu das dreifache der GOT und das 65fache der GPT (Tabelle IV). Eine Anzeige von sehr vereinzelten Leberzellnekrosen durch die GLDH, ohne daß eine signifikante Änderung des Transaminasenspiegels zu beobachten wäre, scheint somit denkbar.

Trotz dieser Einschränkung konnte in vorliegender Untersuchung eine schärfere Fassung des Begriffes "klinisch gesund erscheinende Hunde" durch die gleichzeitige Bestimmung der Aktivitäten beider Transaminasen, deren physiologische Serumaktivitäten bei Hunden vergleichsweise gut bekannt sind (92), erreicht werden.

Die höhere Sensibilität der Transferasen als Indikator der Leberzellintegrität hilft beim Ausschluß einer Leberirritation, wie sie bei zweifelhaften, höheren GLDH-Werten vermutet werden kann. Im Falle von normalen oder nur gering erhöhten Aktivitäten der GPT ist allerdings nach HESS (27) eine Zellnekrose nicht sicher ausgeschlossen.

LETTOW (34) spricht sich dafür aus, daß zwecks Ausschluß einer Leberaffektion optimalerweise eine Laparoskopie und Leberbiopsie mit nachfolgender histologischer Gewebsuntersuchung durchgeführt werden sollten.

Ein anderer Faktor, der Einfluß auf die schiefe Verlaufsform der Verteilungskurve haben könnte, wären rassebedingte Unterschiede.

Die Prüfung eines möglichen rasseabhängigen Unterschieds der GLDH-Serumaktivitäten bot sich an, weil sich nach Abschluß der Versuche herausstellte, daß die Probanden in zwei zahlenmäßig nur wenig verschiedene Gruppen von

1. Beagles und Foxhounds (n = 56) sowie
2. sonstigen Hunden (n = 72), bestehend aus überwiegend Schäferhunden (n = 44)

unterteilt werden konnten.

Dabei ist noch bemerkenswert, daß die erste Gruppe unter standardisierten Bedingungen in Zwingerhaltung und mit Fütterung von Pellets bei Wasseraufnahme nach Belieben gehalten wurde, die zweite, größere

Gruppe jedoch unter den für klinische Fragestellungen bedeutsamen, verschiedenartigsten Haltungsbedingungen lebte.

Es war zu erwarten, daß das weniger homogene Tiermaterial der zweiten Gruppe stärker streut und, um die gleiche Schärfe der Aussage wie bei der ersten Gruppe zu erreichen, eine größere Zahl von Meßergebnissen verlangt, die Ergebnisse hingegen allgemeiner gültig sind.

Der Vergleich konnte jedoch infolge der sehr verschiedenen Altersgruppenverteilung beider Gruppen nicht durchgeführt werden.

Bei der klinischen Anwendung der Untersuchungsergebnisse vorliegender Arbeit wird man sich vorerst mit den Obergrenzen der für die beiden Altersklassen (Hunde bis zu einem Jahr und Hunde älter als ein Jahr) berechneten Bereiche begnügen müssen. "Grenzwerte" sind mit Vorsicht zu interpretieren, bis an einem größeren Material weitere Untersuchungen über die Verteilung sowie die Schätzung der Normalbereiche in Abhängigkeit vom Alter möglich sind.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Untersuchungen hatten zum Ziel, den Bereich der Normalwerte der Glutamat-Dehydrogenase im Blut klinisch gesund erscheinender Hunde zu charakterisieren und den jeweiligen GOT + GPT/GLDH-Quotienten darzustellen.

2. Die Aktivitätsbestimmungen wurden nach dem Prinzip des Optischen Tests unter Verwendung der Biochemica-Testbestecke der Firma Boehringer & Soehne, Mannheim, durchgeführt. Die Messungen erfolgten mit dem Photometer "Eppendorf" bei einer Wellenlänge von 366 nm.

3. Für die GLDH-Bestimmung wurde ein prozentualer Methodischer Fehler von $\pm$ 3,5 % geschätzt. Der entsprechende Wert beträgt für die GOT $\pm$ 4,9 % und für die GPT $\pm$ 4,3 %.

4. Es wurde eine Altersabhängigkeit der GLDH-Serumaktivität festgestellt.

5. Die Verteilung der mittleren GLDH-Werte der Stichprobe zeigte einen schiefen Verlauf, der vor allem durch diesen Alterseinfluß hervorgerufen zu sein scheint.

   Andere mögliche Einflüsse werden diskutiert.

6. Als 95-%-Bereich der GLDH-Aktivität im Serum wurden für
   Hunde bis zu einem Jahr 0,55 bis 2,4 mU/ml und für
   Hunde älter als ein Jahr 0,24 bis 2,18 mU/ml
   durch lineare Interpolation ermittelt

   Als 90-%-Berich der GLDH-Aktivität im Serum wurden für
   Hunde bis zu einem Jahr 0,62 bis 2,26 mU/ml und für
   Hunde älter als ein Jahr 0,41 bis 1,94 mU/ml
   errechnet.

7. Als Modus, das heißt als die größte Dichte der GLDH-Aktivitäten wurde für die untersuchte Stichprobe 0,97 mU/ml gefunden.

8. Der GOT + GPT/GLDH-Quotient wurde in der Spannweite von 5 - 120 gefunden. Die meisten Werte befanden sich zwischen 10 und 20.

   Der 90-%-Bereich erstreckte sich von 7 bis 37,5.

Tabelle VIII

Hunde weiblich

GLDH mU

Altersgruppen

	0,19	0,29	0,39	0,48	0,58	0,68	0,78	0,87	0,97	1,07	1,16	1,26	1,36	1,45	1,55	1,65	1,75	1,84	1,94	2,04	2,13	2,23	2,33	2,42	n	$\bar{x}_i$
Jahre																										
- 1				1	1	1		1	1	1	1	1	1	2		2	1		1			1			16	1.2843
Jahre																										
1 - 5				1		2		2	2		1	2	2	1	1	2	1	1				1			19	1.2652
Jahre																										
über 5			2			1	3	2			4	1	1	1	1			1	2				1		20	1.1925
																									55	$\bar{\bar{x}}$ = 1.2443

Tabelle IX

GLDH mU

Hunde männlich

Altersgruppen	0,19	0,29	0,39	0,48	0,58	0,68	0,78	0,87	0,97	1,07	1,16	1,26	1,36	1,45	1,55	1,65	1,75	1,84	1,94	2,04	2,13	2,23	2,33	2,42	n	$\bar{x}_i$
Monate - 6							2	1	1	1	1	1	3				1		1	1					13	1.2846
Monate 6 - 12						1			2	1	1	1	2		2	1	2		1	1	2	1		2	20c	1.6195
Jahre 1 - 5	1			1	1	1	1		3	6	1	1		1						1					18	0.9972
Jahre über 5	1		1	1	1	2	3	1	4	2		3	1		2										22	0.9304
																									73	$\bar{\bar{x}}$ = 1.1987

Tabelle X

Hunde gesamt

Aktiv.-Werte / Altersgruppen	0,19	0,29	0,39	0,48	0,58	0,68	0,78	0,87	0,97	1,07	1,16	1,26	1,36	1,45	1,55	1,65	1,75	1,84	1,94	2,04	2,13	2,23	2,33	2,42	n	$\bar{x}_i$
Monate - 6							2	1	2	1	1	1	4	1			1		1	1					16	1.2800
Monate 6 - 12				1	1	2		1	2	2	2	2	2	1	2	3	3		2	1	2	2		2	33	1.4896
Jahre 1 - 5	1			2	1	3	1	2	5	6	2	3	2	2	1	2	1	1		1		1			37	1.1348
Jahre über 5	1		3	1	1	3	6	3	4	2	4	4	2	1	3			1	2				1		42	1.0552
																									128	$\bar{\bar{x}}$ = 1.2183

Tabelle XI

	Alter (Jahre)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
Vorstehhund	w. 6	1,94	6,7	9,0	8,09
Airedale	w. 5	0,87	6,0	6,7	14,60
Pudel	w. 2	0,68	6,0	8,3	21,03
Pudel	w. 7	0,78	5,2	4,5	12,43
Boxer	w. 2	1,26	8,3	8,3	13,17
S. H.	w. 5	1,36	6,0	3,8	7,20
Pudel	w. 7	0,39	12,7	9,7	57,43
Pudel	w. 2	1,55	15,7	12,7	18,32
S. H.	w. 5	1,26	11,2	8,3	15,48
Dobermann	w. 10	1,45	16,5	9,0	17,59
S. H.-Bast.	w. 7	1,84	12,7	6,7	10,54
S. H.	m. 10	1,55	6,0	2,2	5,29
S. H.	m. 11	0,97	15,0	9,0	24,74
S. H.	m. 6	0,97	9,7	6,0	16,18
S. H.	m. 6	0,19	10,5	6,0	86,84
Airedale (Pfotennekrose)	w. 4	1,84	12,7	12,7	13,80
Beagle	w. 7	1,26	8,3	2,2	8,33

	Alter (Jahre)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
Foxhound	m. 3	1,16	13,5	9,0	19,40
Foxhound	m. 4	1,26	14,2	11,2	20,16
Foxhound	m. 3	1,45	14,2	9,0	16,00
Foxhound	m. 4	1,07	13,5	12,7	24,48
Foxhound	m. 4	0,48	13,5	7,5	43,75
Foxhound	m. 3	1,07	13,5	13,5	25,23
Beagle	w. 6	0,39	11,2	12,7	61,28
Beagle	w. 6	0,68	6,7	8,3	22,05
S. H.	m. 6	0,78	12,0	7,5	25,00
S. H.	m. 11	0,78	13,5	12,7	33,58
S. H.	m. 11	1,26	12,0	8,3	16,11
S. H.	w. 7	0,78	12,7	12,0	31,66
S. H.	m. 6	0,78	7,5	12,0	25,00
S. H.	w. 7	1,55	10,5	8,3	12,12
S. H.	m. 2	0,68	14,2	5,2	28,52
S. H.	m. 2	0,97	12,0	5,2	17,73
Riesenschnauzer	m. 9	1,26	12,0	8,3	16,11
S. H.	m. 8	0,39	7,5	3,8	28,97
S. H.-Bast.	w. 6	0,78	14,2	12,0	33,58

	Alter (Jahre)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
S. H.-Bast.	m. 5	0,97	8,3	5,2	13,91
S. H.-Bast.	m. 8	0,97	8,3	5,2	13,91
Riesenschnauzer	m. 7	0,48	12,0	5,2	35,83
S. H.	m. 4	1,07	9,0	5,2	13,27
S. H.	m. 2	0,19	11,2	8,3	102,63
Teckel (Marknagelung nach Knochenbruch)	m. 4	1,07	9,7	6,7	15,32
S. H.	m. 8	1,26	12,0	7,5	15,47
Foxterrier (Blasen- u. Harnröhrensteine)	m. 12	1,07	16,5	8,3	23,17
Spitzbastard	w. 4	1,36	9,7	9,0	13,75
T errierbastard	w. 3	1,65	7,5	6,7	8,60
S. H.-Bast.	m. 9	1,36	11,2	14,2	18,67
S. H.	m. 5	0,58	6,7	4,5	19,31
S. H.	m. 7	0,68	9,0	8,3	25,44
S. H.	m. 7	1,55	13,5	8,3	14,06
S. H.	m. 9	1,07	6,7	4,5	10,46
S. H.	m. 7	0,97	11,2	10,5	22,37
S. H.	m. 3	1,07	14,2	6,7	19,53

	Alter (Jahre)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
S. H.	m. 7	0,87	6,7	9,0	18,04
S. H.	m. 4	1,07	9,7	6,0	14,67
S. H.	m. 4	0,97	6,0	4,5	10,82
S. H.	m. 8	0,68	9,0	9,7	27,50
S. H.	m. 4	0,78	7,5	6,0	17,30
Rottweiler	m. 6	0,58	7,5	7,5	25,86
S. H. -Bast. (Lähmung)	w. 10	1,16	9,0	9,7	16,12
Hovavart	w. 8	0,87	9,0	4,5	15,51
Beagle	w. 3	1,16	13,5	4,5	15,51
Beagle	w. 3	0,68	8,3	14,2	33,09
Boxer	w. 4	1,65	13,5	11,2	14,96
S. H.	w. 8	1,16	9,7	9,0	16,12
S. H.	w. 8	1,36	15,0	11,2	19,26
Beagle	m. 4	2,04	9,0	4,5	6,61
Beagle	w. 4	1,45	11,2	15,0	18,06
Spitzbastard	w. 4	0,97	4,5	9,7	14,63
Show-Show-Bastard	w. 5	0,87	12,0	11,2	26,66
S. H. -Bast.	w. 10	1,16	13,5	14,2	23,87

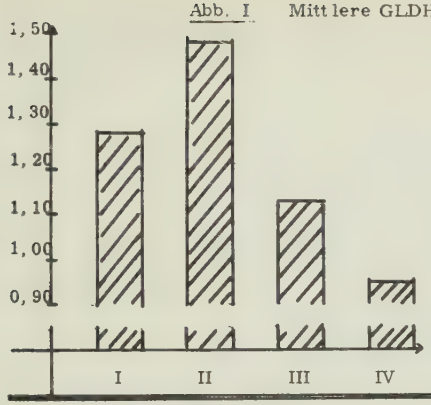
	Alter (Jahre)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{GOT + GPT}{GLDH}$
Beagle	w. 3	0,97	7,5	4,5	12,37
Beagle	w. 3	2,23	15,7	15,0	13,76
Beagle	w. 3	1,75	12,0	12,0	13,71
S. H.	w. 8	2,33	10,5	8,3	8,06
S. H.	w. 8	1,94	15,0	15,7	15,82
S. H.	w. 7	1,16	15,7	13,5	25,17
S. H.	w. 9	0,87	9,7	9,7	22,29
Beagle	w. 4	0,48	11,2	6,7	37,29
	Alter (Monate)				
Beagle	m. 10	0,97	12,0	6,0	18,55
Beagle	m. 10	1,26	4,5	6,0	8,33
Beagle	w. 10	1,65	9,7	3,0	7,69
Beagle	w. 10	1,65	11,2	12,7	14,48
Beagle	w. 2	1,45	12,0	11,2	16,00
Beagle	w. 10	1,75	13,5	11,2	14,11
Beagle	w. 10	1,26	11,2	11,2	17,77
Beagle	w. 10	1,94	15,0	11,2	13,50

	Alter (Monate)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
Beagle	m. 10	1,55	14,2	11,2	16,38
Beagle	m. 3	1,16	11,2	9,7	18,01
Beagle	m. 3	1,26	10,5	7,5	14,28
Beagle	m. 3	1,75	9,7	6,0	8,97
Beagle	m. 10	1,94	15,0	7,5	11,59
Beagle	m. 8	1,75	15,0	7,5	12,85
Beagle	m. 10	2,13	8,3	7,5	7,41
Beagle	m. 10	2,23	15,7	9,7	11,39
Beagle	m. 6	1,07	10,5	11,2	20,28
Beagle	w. 9	0,68	6,7	6,7	19,70
Beagle	m. 9	1,75	11,2	10,5	12,40
Beagle	m. 9	2,42	6,7	9,7	6,77
Beagle	w. 4	1,36	9,0	9,0	13,23
Beagle	w. 4	0,97	11,2	8,3	20,10
Beagle	m. 4	0,78	9,7	8,3	23,07
Beagle	m. 4	0,87	15,0	9,0	27,58
Beagle	m. 4	1,36	10,5	9,0	14,33
Beagle	m. 2	0,97	13,5	9,0	23,19
Beagle	m. 2	0,78	13,5	7,5	26,92
Beagle	m. 11	1,07	13,5	9,0	21,02

	Alter (Monate)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
Beagle	m. 9	2,04	9,7	4,5	6,96
Boxer	m. 7	2,42	12,0	6,0	7,43
Spitzbastard	m. 6	1,36	8,3	6,0	10,51
Spitzbastard	m. 6	1,94	9,0	6,0	7,73
Spitzbastard	m. 6	2,04	9,7	5,2	7,30
Spitzbastard	m. 6	1,36	9,0	6,0	11,02
S. H.	m. 12	1,36	10,5	5,2	11,54
Beagle	w. 12	0,48	6,0	2,2	17,08
Beagle-Bast.	w. 12	1,45	8,3	11,2	13,44
Beagle-Bast.	w. 12	0,87	15,0	15,0	34,48
Beagle-Bast.	w. 12	1,07	8,3	8,3	15,51
Beagle-Bast.	w. 12	0,58	12,7	9,0	37,41
S. H. (gebrochene Extr.)	m. 12	0,97	6,0	6,7	13,09
Terrier-bastard	w. 12	1,16	9,7	8,3	15,51
Terrier-bastard	m. 12	1,55	10,5	7,5	11,61
Terrier-bastard	w. 12	2,23	10,5	14,2	11,07
Beagle	m. 12	1,65	13,5	10,5	14,54

	Alter (Monate)	GLDH in mU/ml	GOT in mU/ml	GPT in mU/ml	$\frac{\text{GOT + GPT}}{\text{GLDH}}$
Beagle	m. 12	2,13	6,7	6,7	6,29
Beagle	m. 12	0,68	11,2	9,7	30,73
Beagle	m. 12	1,16	10,5	10,5	18,10
Beagle	m. 12	1,36	9,0	9,7	13,75

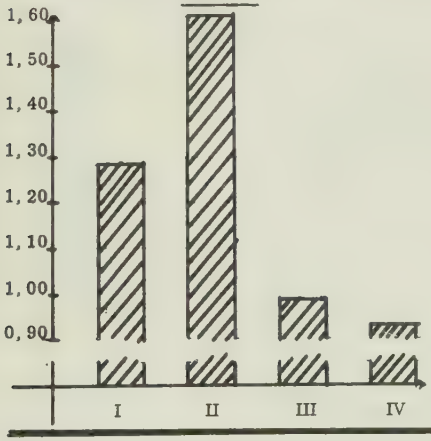
Abb. I Mittlere GLDH-Werte der Altersklassen



Hunde gesamt n = 128

Gruppe	Alter	n	$\bar{x}$
I	- 6 Mon.	16	1,28
II	6 -12 Mon.	33	1,49
III	1 - 5 Jhr.	37	1,13
IV	über 5 Jhr.	42	1,06
		$\bar{\bar{x}}$	= 1,22

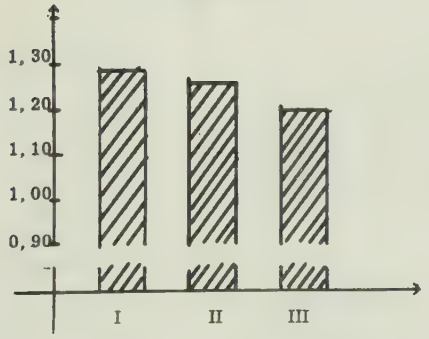
Abb. II



Hunde männlich n = 73

Gruppe	Alter	n	$\bar{x}$
I	- 6 Mon.	13	1,28
II	6 -12 Mon.	20	1,62
III	1 - 5 Jhr.	18	1,00
IV	über 5 Jhr.	22	0,93
		$\bar{\bar{x}}$	= 1,20

Abb. III

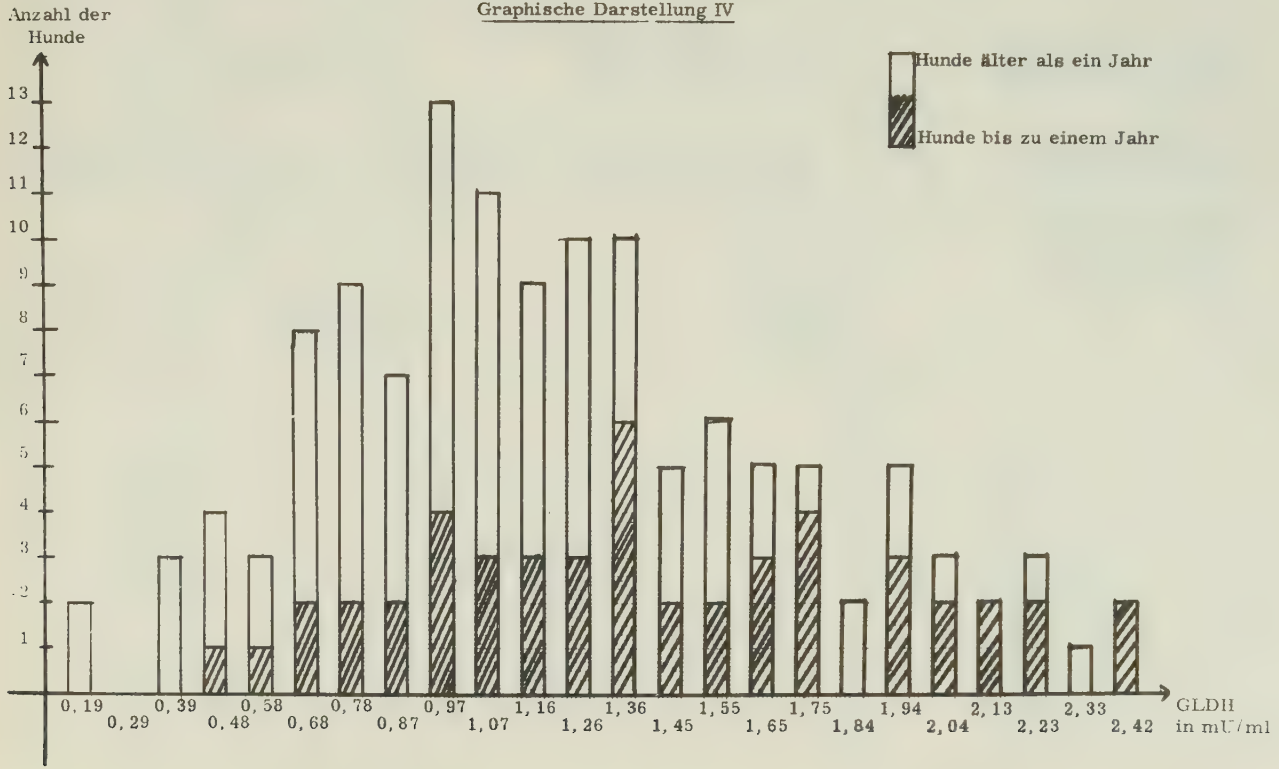


Hunde weiblich n = 55

Gruppe	Alter	n	$\bar{x}$
I	- 1 Jhr.	16	1,28
II	1 - 5 Jhr.	19	1,27
III	über 5 Jhr.	20	1,19
		$\bar{\bar{x}}$	= 1,24

Graphische Darstellung IV

Graphische Darstellung IV



VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. AMELUNG, D., H. D. HORN u. E. SCHRÖDER
Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Frage der Fermentelimination aus dem Serum
Klin. Wschr. 36, 963 (1958)

2. AMELUNG, D.
Fermentdiagnostik interner Erkrankungen
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1964

3. BÄSSLER, K. H.
Glutaminsäuredehydrogenase
in: Hoppe-Seyler/Thierfelder
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse
Enzyme Teil A
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, New York, 10. Auflage 1964

4. BÄSSLER, K. H. und Ch. HAMMER
Reduktive Aminierung von Ketovaleriansäure an Glutaminsäuredehydrogenase
Biochem. Zschr. 330, 446 (1958)

5. BAIER, H.
Leberzellpermeabilität unter dem Einfluß von Prednisolon
Klin. Wschr. 37, 1127 (1959)

6. BERGMEYER, H. U.
Fermentdiagnostik bei Lebererkrankungen
Podiumsdiskussion, referiert in:
Das Ärztliche Laboratorium 9, 24 (1963)

7. BLOCK, A.
Die Isozitronensäuredehydrogenase (ICD) im Serum klinisch gesunder Hunde
Vet.-med. Diss. Berlin, FU (1965)

8. CHRISTIE, G. S. und J. D. JUDAH
Intracellular distribution of enzymes
Proc. R. Soc. London (B) 141, 420 (1953)

9. COPENHAVER, J. H., W. H. McSHAN und R. K. MEYER
The determination of glutamic acid dehydrogenase in tissue homogenates
J. Biol. Chem. 183, 73 (1950)

10. CORNELIUS, Che. E., J. BISHOP, J. SWITZER und E. RHODE
Serum and tissue transaminase activities in domestic animals
Cornell Vet. 49, 116 (1959)

11. CRAWLEY, G. J. and M. J. SVENSON
Comparison of 2 tests for serum transaminase activities and the effects of age of dog and method of handling samples on certain serum enzymes in the dog
Am. J. Vet. Res. 26, 1468 (1965)

12. DUNN, M., J. MARTINS und K.R. REISSMANN
The disappearance rate of glutamic-oxalacetic-transaminase from the circulation and its distribution in the body's fluid compartments and secretions.
J. Lab. Clin. Med. 51, 259 (1958)

13. EULER, H. von, E. ADLER, G. GÜNTHER u. N.B. DAS
Über den enzymatischen Abbau und Aufbau der Glutaminsaäure
Hoppe-Seylers Zschr. physiol. Chem. 254, 61 (1938)

14. FEISSLI, S., G. FORSTER, G. LAUDAHN, E. SCHMIDT und F. W. SCHMIDT
Normal-Werte und Alterung von Hauptkettenenzymen im Serum
Klin. Wschr. 44, 390 (1966)

15. FILIPPA, G.
Die diagnostische Bedeutung der Glutamat-Dehydrogenase-Aktivität im Serum
Enzymol. biol. clin. 3, 97 (1963)

16. FILIPPA, G.
Die Bestimmung der leberspezifischen Glutamat-Dehydrogenase
Das Ärztliche Labor. 11, 84 (1965)

17. FLEISHER, G.A. und K.G. WAKIM
Presence of two glutamic-oxalacetic-transaminases in serum of dogs following acute injury of the liver
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106, 283 (1961)

18. FLEISHER, G. A. und K. G. WAKIM
The fate of enzymes in body fluids - an experimental study
III. Disappearance rates of glutamic-oxalacetic-transaminase II under various conditions.
J. Lab. clin. Med. 61, 98 (1963)

19. FLEISHER, G. A., S. C. POTTER und K. G. WAKIM
Separation of 2 glutamic-oxalacetic-transaminases by paper electrophoresis
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (NY) 103, 229 (1960)

20. FRIEDEN, C.
Glutamic dehydrogenase
III. The order of substrate addition in the enzymatic reactions
J. biol. Chem. 234, 281 (1959)

21. GERBER, H.
Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin (II. Teil)
Schweiz. Arch. Tierheilk. 106, 85 (1964)

22. GÖGGEL, K. H.
Enzymdiagnostik in der Laborpraxis
Das Ärztl. Labor. 9, 329 (1963)

23. GREENBAUM, A. L. und F. C. GREENWOOD
Some enzymic changes in the mammary gland of rats during pregnancy, lactation and mammary involution
Biochem. J. 56, 625 (1954)

24. HARTMANN, H.

Grundlagen enzymologischer Diagnostik
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 70, 570 (1964)

25. HELLERMANN, L., K. SCHELLENBERG und O. REISS
L-glutamic acid-dehydrogenase
II. Role of enzyme sulfhydryl groups.
J. biol. Chem. 233, 1468 (1958)

26. HELM, v. d.

L-glutamate dehydrogenase isoenzymes
Nature 194, 773 (1962)

27. HESS, B.

Enzyme im Blutplasma
Verlag Georg Thieme, Stuttgart 1962

28. HESS, B.

Isoenzyme in der klinischen Diagnostik
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 70, 578 (1964)

29. HOFFMANN-OSTENHOF, O.
Klassifikation und Nomenklatur der Enzyme
Hoppe-Seyler/Thierfelder
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse
Enzyme, Teil A
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg
New York, 1964, 10. Auflage

30. HOGEBOOM, G. H., und W. C. SCHNEIDER
Intracellular distribution of enzymes
XI. Glutamic dehydrogenase
J. biol. Chem. 204, 233 (1953)

31. HOLZER, E. und S. SCHNEIDER
Anreicherung und Trennung einer TPN-spezifischen und DPN-spezifischen Glutaminsäuredehydrogenase aus Hefe
Biochem. Zschr. 329, 361 (1957)

32. JEDLOVSKI, A. und J. KELLEN
Zur Bestimmung der Transaminasen in der Galle
Zschr. ges. inn. Med. 15, 884 (1960)

33. LAUDAHN, G.
Bestimmung der Glutaminsäure-Dehydrogenase Aktivität im Serum bei verschiedenen inneren Krankheiten
Klin. Wschr. 41, 618 (1963)

34. LETTOW, E.
Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Diagnose der Lebererkrankungen des Hundes
Zbl. Vet. Med. 9, 75 und 109 (1962)

35. LEUTHARDT, F.
Lehrbuch der physiologischen Chemie
Walter de Gruyter & Co., Berlin 1963

36. LINDNER, H.

Verhalten der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT) bei chronisch rezidivierender Hepatitis und aktiver posthepatitischer Lebercirrhose unter Prednisonbehandlung
Klin. Wschr. 36, 877 (1958)

37. LÖHR, G.

Stoffwechseleigenschaften und Enzyme der Leukozyten des Menschen
Fol. Haemat. 6, 49 (1961)

38. LÖHR, G. und G. WALLER

Zellstoffwechsel und Zellalterung
Klin. Wschr. 36, 877 (1958)

39. LOWRY, O., N. ROBERTS und C. LEWIS

The quantitative histochemistry of the retina
J. biol. Chem. 220, 879 (1956)

40. LOWRY, O., N. ROBERTS und M. CHANG

The analysis of single cells
J. biol. Chem. 222, 97 (1956)

41. MASSARAT, S.

Studien über die In-Vitro-Alterung der Transaminasen im Serum und Gewebsextrakt
Enzymol. biol. clin. 5, 200 (1965)

42. MATTENHEIMER, H.
Mikromethoden für das Klinisch-Chemische und Biochemische Laboratorium
Walter de Gruyter & Co., 1961

43. MATTENHEIMER, H.
Enzymologie für den praktischen Arzt
Verlag Hans Huber, Bern - Stuttgart, 1966

44. MERTEN, R.
Fermentdiagnostik bei Lebererkrankungen
Podiumsdiskussion, referiert in:
Das Ärztl. Labor. 9, 24 (1963)

45. METALLINOS, A.
Die enzymatische Bestimmung der Brenztraubensäure- und der Ketoglutarsäure-Konzentration im Blut klinisch gesunder Hunde
Vet.-med. Diss. Berlin, FU, 1962

46. NAGODE, L., W. FRAJOLA und W. LOEB
Enzyme activities of canine tissues
Am. J. Vet. Res. 27, 1385 (1966)

47. NORDMANN, R.
Zur Therapie der Hyperammoniaemie
Anaesthesiologie and Resuscitation.
Anaesthesiologie und Wiederbelebung.
Anesthesiologie et Reanimation. Bd. 13, 1966

48. OLSON, J. und C. ANFINSEN
The crystallization and characterization of
L-glutamic acid dehydrogenase
J. biol. Chem. 197, 67 (1952)

49. OLSON, J. und C. ANFINSEN
Kinetic and equilibrum studies on crystalline
L-glutamic acid dehydrogenase
J. biol. Chem. 202, 841 (1953)

50. OTTO, P., E. SCHMIDT und F. W. SCHMIDT
Enzymspiegel im Serum bei körperlicher
Arbeit und ambulanten Patienten
Klin. Wschr. 42, 75 (1964)

51. PETTE, D. und H. BRANDAU
Enzym-Histiogramme und Enzymaktivitätsmuster
der Rattenleber
Enzymol. biol. clin. 6, 79 (1966)

52. PIETSCHMANN, H., H. PUXKANDL und F. REINHARDT
Über die Ausscheidung der Glutaminsäure-
Oxalessigsäure-Transaminase im Harn.
Wien. Zschr. inn. Med. 41, 440 (1960)

53. RAPOPORT, S.
Medizinische Biochemie
VEB Verlag Volk und Gesundheit, 3. Auflage,
Berlin 1965

54. REES, K.
Cellular injury by drugs in enzymes and drug action
Verl. J. A. Churchill Ltd., London 1962

55. RICHTERICH, R.
Die diagnostische Bedeutung organspezifischer Enzyme
Materia Med. Nordmark XVI/1 (1964), 1

56. RICHTERICH, R., F. VERREY, R. GAUTIER und K. STAMPFLI
Serumenzyme bei Blutspendern
I. Oxalacetat- und Pyruvattransaminase bei Rekruten mit Gelbsuchtanamnese
Schweiz. Med. Wschr. 91, 601 (1961)

57. RICHTERICH, R.
Klinische Chemie
Verl. S. Karger, Basel - New York 1965

58. SCHENK, M. und E. KOLB
Grundriß der Physiologischen Chemie für Veterinärmediziner, Humanmediziner und Biologen
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1959

59. SCHLEICHER, H.
Die Fructose 1, 6-Diphosphataldolase im Serum klinisch gesunder Hunde
Vet. Med. Diss. Berlin, FU, 1966

60. SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT und E. WILDHIRT
Vergleichende Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen und in der Rattenleber.
Fermentaktivitätsbestimmungen in der menschlichen Leber. I. Mitt.
Klin. Wschr. 36, 172 (1958)

61. SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT und E. WILDHIRT
Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen Leber bei der akuten Hepatitis und ihren Ausheilungszuständen
Fermentaktivitätsbestimmungen in der menschlichen Leber. II. Mitt.
Klin. Wschr. 36, 280 (1958)

62. SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT und E. WILDHIRT
Fermentaktivitätsbestimmungen in der menschlichen Leber. IV. Mitt.
Ergebnisse der Untersuchungen weiterer sieben Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in der normalen und der pathologisch veränderten menschlichen Leber.
Untersuchungen über den Eiweiß- und Blutgehalt in Leberpunktaten
Klin. Wschr. 37, 1221 (1959)

63. SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT und E. WILDHIRT
Zum Enzymmuster der Leber bei posthepatitischer Hyperbilirubinaemie
Fermentaktivitätsbestimmungen in der menschlichen Leber. VII.Mitt.
Klin. Wschr. 37, 1229 (1959)

64. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Zur Pathophysiologie von enzymatischen Veränderungen bei Lebererkrankungen
Fortschritte der Gastroenterologie
Verl. Urban & Schwarzenberg, München 1960, S. 302

65. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Physiologische Grundlagen der Leber-Enzymdiagnostik
Bibl. Gastroent. 4, 15 (1961)

66. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Methode und Wert der Bestimmung der Glutaminsäure-Dehydrogenase-Aktivität im Serum
Klin. Wschr. 40, 962 (1962)

67. SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT, H. HORN und U. GERLACH
Die Bedeutung der Messung von Enzymaktivitäten in der Medizin
in: Bergmeyer, H. U.
Methoden der enzymatischen Analyse
Verl. Chemie, Weinheim/Bergstr., 1962, S. 652

68. SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT und Ch. HERFARTH
Isoenzyme in der menschlichen Leber und ihre intrazelluläre Lokalisation
IX. Mitt. Fermentaktivitätsbestimmungen in der menschlichen Leber
Klin. Wschr. 40, 1132 (1962)

69. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Das Verteilungsmuster einiger Enzyme in der menschlichen Leber und seine Veränderung unter der Zellschädigung
Enzymol. biol. clin. 3, 73 (1963)

70. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Enzymbestimmungen im Serum bei Leberkrankungen
Funktionsmuster als Hilfsmittel der Diagnose
Enzymol. biol. clin. 3, 1 (1963)

71. SCHMIDT, E. und F.W. SCHMIDT
Untersuchungen über die Alterung von Enzymen in vitro
Enzymol. biol. clin. 3, 80 (1963)

72. SCHMIDT, F.W.
Enzymbestimmungen zur Diagnose und Verlaufsbeobachtung von Lebererkrankungen.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 70, 612 (1964)

73. SCHMIDT, F. W.

Erfahrungen mit Enzymbestimmungen bei Toxizitätsuntersuchungen
Proceedings of the European society for the study of drug toxicity
Vol. V: Advances in toxicological methodology
Januar 1965, S. 84
reprinted from Excerpta Medica International Congress, series 90

74. SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT

Enzymfibel
Biochem. Abt. Fa. C. F. Boehringer & Soehne GmbH
Mannheim, 1965

75. SCHÖN, H. und R. BRAUNE

Untersuchungen über den Wert der Glutaminsäure-dehydrogenase und Isozitronensäuredehydrogenase in der Serumfermentdiagnostik
Ärztl. Forsch. 17, 530 (1963)

76. SCHULZE, F. W.

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-pyruvat-Transaminase (GPT) und Sorbitdehydrogenase (SDH) im Serum und im Plasma des Hundes vor und nach körperlicher Belastung
Vet. Med. Diss. Berlin, FU, 1967

77. SIEBERT, G.

unveröffentlicht, zit. in Bässler, K. H.:
Glutaminsäuredehydrogenase. In Hoppe-Seyler/Thierfel
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-Chemisch
Analyse. Enzyme Teil A. Verl. Springer Berlin, Göttin
Heidelberg, New York, 10. Auflage 1964

78. STAVE, U.

Transaminasen und glykolytische Fermente im Serum von Neugeborenen, Säuglingen und Kindern. Zschr. Kinderheilk. 81, 472 (1958)

79. STEVENS, W. und D. L. BERLINER

Serum transaminase levels in beagle dogs burdened with Plutonium 239
Radiation res. 23, 420 (1964)

80. STRECKER, C.

Glutamic-dehydrogenase
Arch. Biochem. Biophys. 46, 128 (1953)

81. STRUCK, J. und J. W. SIZER

The substrate specifity of glutamic acid-dehydrogenase
Arch. Biochem. 86, 260 (1960)

82. WAKIM, K. G., und G. A. FLEISHER

The fate of enzymes in body fluids - an experimental study
II. Disappearance rates of glutamic-oxalacetic - transaminase I under various conditions
J. Lab. Clin. Med. 61, 86 (1963)

83. WAKIM, K. G. und G. A. FLEISHER

The fate of enzymes in body fluids - an experimental study
IV. Relationship of the reticuloendothelial system to activities and disappearance rates of various enzymes
J. Lab. Clin. Med. 61 (1963), 107

84. WALLENFELS, K., H. SUND und H. DIECKMANN
Über den Mechanismus der Wasserstoffübertragung mit Pyridinnucleotiden.
IV. Hemmstoffe für DPN-abhängige Zinkenzyme
Biochem. Zschr. 329, 48 (1957)

85. WARBURG, O. und W. CHRISTIAN
Optischer Nachweis der Hydrierung und Dehydrierung des Pyridins im Gärungs-Co-Ferment
Biochem. Zschr. 286, 81 (1936)

86. WEBER, E.
Grundriß der biologischen Statistik
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1961
4. Auflage

87. WILDHIRT, E.
Die klinische Bedeutung der Enzymbestimmungen im Serum bei Lebererkrankungen
Materia Med. Nordmark XIV 13, 563 (1962)

88. WIELAND, Th. und G. PFLEIDERER
Multiple Formen von Enzymen
Advanc. Enzymol. XXV, 328 (1963)

89. WILKINSON, J.H.
Isoenzymes
E. & F.N. Spon Ltd. London, 1965

90. WOLF, J.

The effect of thyroxine on isolated dehydrogenases
J. biol. Chem. 237, 230 (1962)

91. WROBLEWSKI, F., G. JERVIS und J.S. LaDUE

The diagnostic, prognostic and epidemiologic significance of serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) alterations in acute hepatitis
Ann. int. Med. 45, 782 (1956)

92. WÜRZNER, H.P.

Glutamin-Oxalessigsäure-Transaminase (GOT), Glutamin-Brenztraubensäure-Transaminase (GPT) und Milchsäuredehydrogenase (MDH) im Serum klinisch gesunder Hunde
Vet. Med. Diss. Berlin, FU, 1959

93. Verf. nicht genannt

Report of the Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry
Pergamon Press New York, Oxford, London, 1961

94. Verf. nicht genannt

Enzyme nomenclature.
Recommendations 1964 of the International Union of Biochemistry on the nomenclature and classification of enzymes, together with their units and the symbols of enzyme cinetics.
Elsevier Publishing Co., Amsterdam - London - New York, 1965

Nach Abschluß meiner Arbeit möchte ich Frau Professor Dr. E. Lettow für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. L. Felix Müller für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und die Erlaubnis, die institutseigenen Einrichtungen zu benutzen.

Herrn Dipl.-Kaufmann H. Weiss danke ich sehr für seine Anleitung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Am 11. 2. 1935 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Fritz Köllmer und seiner Ehefrau Hiltrud, geborene Krause, in Königsberg/Ostpr. geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1941 bis 1949 in Königsberg und Gotha/Thür.

Nach Besuch der Oberschule in Ilmenau und Mühlhausen/Thür legte ich im März 1954 die Reifeprüfung ab.

Im März 1957 immatrikulierte ich mich an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Karl-Marx-Universität in Leipzig. Im September 1961 wurde ich vom Studium relegiert.

1963 kam ich nach Berlin (West) und beendete mein Studium an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin im Februar 1965 mit dem Tierärztlichen Staatsexamen.

Die Praktikantenausbildung erhielt ich je drei Monate an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere und der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten an der Freien Universität Berlin.

Anschließend fertigte ich die vorliegende Dissertation an und bin seit Juli 1967 als angestellter Tierarzt auf dem Gebiet der Geflügelkrankheiten tätig.